



**Universidade de Évora**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL REPRODUTIVO  
DE TOUROS ATRAVÉS DO EXAME  
ANDROLÓGICO**

**Relatório de estágio realizado por:**

**Katalin Marianna Szeremi Cargaleiro**

Orientadora:

Doutora Maria Cristina Queiroga

Co-orientador:

Dr. Rui Martelo

“Este relatório inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri”

2012

Évora



**Universidade de Évora**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL REPRODUTIVO  
DE TOUROS ATRAVÉS DO EXAME  
ANDROLÓGICO**

**Relatório de estágio realizado por:**

Katalin Marianna Szeremi Cargaleiro

Orientadora:

Doutora Maria Cristina Queiroga

Co-orientador:

Dr. Rui Martelo

“Este relatório inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri”

2012

Évora

## **Resumo**

Este trabalho refere-se às atividades do estágio de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, apresentando-se casuística no âmbito dos planos sanitários e atividade clínica acompanhados.

Como tema para discussão optou-se pela avaliação de touros através do exame andrológico. Após revisão bibliográfica analisaram-se dados obtidos pela VetAI (2008- 2012) caracterizando a população dos touros de carne no Sul de Portugal.

Dos 184 touros avaliados foram aprovados 72,28 %, aumentando a probabilidade de reprovação tendencialmente com idade. Em parâmetros reprodutivos importantes como perímetro testicular existe influência de: idade ( $p<0,001$ ), raça ( $p<0,05$ ) e Pontuação da Condição Corporal (PCC) ( $p<0,05$ ). Encontraram-se correlações significativas entre parâmetros tais como perímetro testicular e idade ( $p<0,001$ ;  $r=0,52$ ), PCC e parâmetros seminais microscópicos ( $p<0,05$ ) e dos vários parâmetros entre si.

O exame andrológico é essencial para estimar o potencial reprodutivo dos touros e importa fomentar a sua realização em Portugal para melhorar os níveis de fertilidade e rentabilidade das explorações.

Palavras-chave: bovino; touro; exame andrológico; reprodução; fertilidade

## **Abstract**

### **Rating of bulls' reproductive potential through breeding soundness evaluation**

This document reports the activities of the traineeship for the Master in Veterinary Medicine, including the presentation of the number of cases attended during herd health plans and clinical activity.

The theme chosen for discussion was bull fertility through breeding soundness evaluation. Data obtained by Vetal (2008-2012) were analyzed, according to the state of the art, with the aim of characterizing beef bulls' population in Southern Portugal.

Out of 184 bulls evaluated, 72,28 % were approved, unsuccessful outcome apparently increases with age. Scrotal circumference was significantly influenced by: age ( $p<0,001$ ), breed ( $p<0,05$ ) and Body Condition Scoring (BCS) ( $p<0,05$ ). Correlations were significant between scrotal circumference and age ( $p<0,001$ ;  $r=0,52$ ), between BCS and microscopic semen evaluation parameters ( $p<0,05$ ) and between these semen evaluation parameters.

The breeding soundness evaluation is essential to assess bulls' reproductive potential and routine performance of this exam should be encouraged in Portugal to improve fertility and herd profitability.

**Keywords:** bovine; bull; breeding soundness evaluation; reproduction; fertility

## Índice geral

Resumo .....	iii
Abstract.....	iv
Índice geral .....	v
Índice de figuras .....	viii
Índice de gráficos.....	x
Índice de tabelas .....	xii
Lista de abreviaturas e símbolos.....	xiv
1. Introdução.....	1
1.1. Apresentação do local de estágio.....	1
2. Casuística.....	3
2.1. Distribuição das intervenções realizadas nas várias espécies animais.....	3
2.2 Profilaxia.....	4
2.2.1 Controlo das doenças infecciosas .....	4
2.2.2 Controlo das doenças parasitárias nas várias espécies animais.....	6
2.3 Casuística – bovinos .....	11
2.3.1 Programa sanitário oficial das explorações de bovinos .....	12
2.3.2 Vacinação de bovinos.....	15
2.3.3. Casos clínicos de bovinos .....	17
2.4. Casuística – Pequenos ruminantes .....	20
2.4.1. Programa sanitário oficial das explorações de pequenos ruminantes .....	21
2.4.2 Vacinação de pequenos ruminantes .....	22
2.4.3 Reprodução nos pequenos ruminantes .....	24

2.5. Casuística - suínos .....	26
2.6. Casuística – equinos.....	28
3. Avaliação do potencial reprodutivo de touros através do exame andrológico .....	32
3.1. Importância económica da fertilidade ao nível da exploração.....	32
3.2. Maneio dos machos .....	33
3.2.1. Maneio reprodutivo .....	33
3.2.2 Maneio geral dos touros .....	35
3.2.3. Desenvolvimento dos machos jovens .....	36
3.2.4 Utilização de touros jovens .....	38
3.3. Exame andrológico .....	39
3.3.1. Exame físico.....	40
3.3.2. Exame do aparelho genital .....	41
3.3.3. Colheita de sémen .....	45
3.3.4. Avaliação do sémen .....	47
3.4. Classificação dos exames andrológicos .....	55
3.4.1. <i>Society for Theriogenology</i> 1993 (SFT93).....	55
3.4.2. <i>Western Canadian Association of Bovine Practitioners</i> 1993 (WC93).....	56
3.5. Exames complementares para a avaliação da fertilidade do touro .....	57
4. Estudo de caso .....	59
4.1. Introdução .....	59
4.2. Materiais e métodos .....	61
4.2.1. Exame físico.....	62
4.2.2 Exame do aparelho genital .....	62
4.2.3. Colheita de sémen .....	62
4.2.4. Avaliação do sémen .....	63
4.2.5. Classificação dos exames andrológicos .....	64

4.2.6. Modelo estatístico .....	65
4.2.7. Animais avaliados .....	65
4.3. Resultados .....	66
4.4. Discussão .....	76
4.5 Conclusão.....	81
Bibliografia.....	83
Anexo: Ficha para exame andrológico .....	92

## Índice de figuras

Figura 1: Colheita de fezes da ampola retal de um bovino (fotografia original).....	7
Figura 2: Pesquisa de formas parasitárias leves pelo método de <i>Willis</i> (fotografia original) ....	9
Figura 3: Contagem de ovos na câmara de <i>McMaster</i> .....	9
Figura 4: Ovo do tipo estrangilo em fezes de equino (fotografia original).....	10
Figura 5: Ovo de <i>Moniezia</i> em fezes de bovino .....	10
Figura 6: <i>Moniezia</i> adulto proveniente de fezes de bovino (fotografia original) .....	10
Figura 7: Colheita de amostra de sangue da veia coccígea média dum bovino (fotografia original) .....	13
Figura 8: Medição da espessura da prega cutânea para a prova de IDT num bovino .....	15
Figura 9: Material necessário para a realização da prova de IDT .....	15
Figura 10: Inoculação subcutânea num bovino (fotografia original) .....	17
Figura 11: Inoculação subcutânea num vitelo (fotografia original) .....	17
Figura 12: Administração de vacina por via subcutânea num ovino (fotografia original).....	25
Figura 13: Diagnóstico de gestação em ovinos por ultrassonografia .....	25
Figura 14: Remoção de larvas de uma ferida num suíno (fotografia original).....	27
Figura 15: Vacinação de suínos.....	27
Figura 16: Correção da mesa dentária de uma égua.....	30
Figura 17: Colheita de amostra para a pesquisa do agente da Metrite Contagiosa Equina.....	30
Figura 18: Órgãos reprodutivos do touro (adaptado de Chenoweth e Kastelic, 2007) .....	42
Figura 19: Palpação testicular num touro (fotografia original) .....	45
Figura 20: Medição da circunferência escrotal (fotografia original).....	45
Figura 21: Formas anormais comuns nos espermatozóides (adaptado de Parkinson, 2001) ...	53
Figura 22: Espermatozóide normal .....	53
Figura 23: Cabeça piriforme.....	53



Figura 24: Cabeças destacadas .....	53
Figura 25: Gota citoplasmática proximal .....	54
Figura 26: Teratóide .....	54
Figura 27: Defeito “Dag” .....	54
Figura 28: Cauda enrolada.....	54
Figura 29: Eletroejaculador .....	63
Figura 30: Colheita de sémen através de EEJ num touro de raça Limousine .....	63
Figura 31: Comparação da cor de vários ejaculados (notar a contaminação de urina em alguns casos) .....	63

## Índice de gráficos

Gráfico 1: Distribuição dos animais intervencionados por espécie (n=11507).....	3
Gráfico 2: Distribuição das amostras com presença de formas parasitárias nos exames coprológicos de grupo e individuais (Ind.).....	10
Gráfico 3: Representação gráfica da distribuição relativa de bovinos pelas áreas de intervenção (n=5656).....	12
Gráfico 4: Representação gráfica da distribuição do número dos casos clínicos de bovinos pelas áreas de intervenção .....	18
Gráfico 5: Distribuição das intervenções de outras áreas nos bovinos (n=12).....	19
Gráfico 6: Exames complementares realizados nos bovinos .....	19
Gráfico 7: Representação gráfica da distribuição relativa de pequenos ruminantes pelas áreas de intervenção (n=5146).....	20
Gráfico 8: Representação gráfica da distribuição dos casos pelas áreas de intervenção em equinos (n=124).....	28
Gráfico 9: Distribuição dos exames complementares realizados nos equinos .....	31
Gráfico 10: Distribuição do número de touros de carne por raça (DGAV, 2012) .....	60
Gráfico 11: Distribuição do número de touros de carne por raça não considerando a raça Brava de Lide e Brava de Lide dos Açores (DGAV, 2012) .....	61
Gráfico 12: Distribuição da idade dos touros examinados .....	66
Gráfico 13: Relação entre o perímetro testicular e a idade, valores da regressão quadrática obtida .....	74
Gráfico 14: Relação entre o perímetro testicular e a pontuação da condição corporal, representação gráfica da regressão linear obtida .....	74
Gráfico 15: Relação entre a pontuação da condição corporal e a morfologia espermática, representação gráfica da regressão linear obtida .....	75

Gráfico 16: Relação entre o teste de coloração vital e a idade, representação gráfica da regressão linear obtida .....	75
Gráfico 17: Probabilidade de aprovação dos touros em função da idade dos touros em meses .....	76

## Índice de tabelas

Tabela 1: Número de animais acompanhados nas diferentes espécies e respectivas percentagens .....	3
Tabela 2: Doenças causadas por espécies patogénicas de <i>Clostridium</i> .....	6
Tabela 3: Número de exames coprológicos realizados por espécie e tipo de amostra.....	8
Tabela 4: Níveis de eliminação de ovos por grama de fezes nas várias espécies animais e limiar de tratamento (adaptado de Madeira de Carvalho, 2001, citado por Duro, 2010; Taylor, 2010; Abbott <i>et al.</i> , 2009).....	10
Tabela 5: Comparação da constituição antigénica das vacinas utilizadas no controlo de clostridiose nos bovinos .....	16
Tabela 6: Comparação da constituição antigénica das vacinas utilizadas no controlo de clostridioses e pasteureloses nos pequenos ruminantes.....	23
Tabela 7: Pontuação da motilidade massal (adaptado de Louge e Crawshaw, 2004).....	49
Tabela 8: Circunferência escrotal mínima recomendada para touros (adaptado de Spitzer <i>et al.</i> , 1998).....	56
Tabela 9: Motilidade massal e motilidade individual mínimas recomendadas para sémen de touros (adaptado de Spitzer <i>et al.</i> , 1998).....	56
Tabela 10: Estatísticas descritivas para os vários parâmetros avaliados nos exames andrológicos em todos os touros .....	67
Tabela 11: Resultados para os vários parâmetros avaliados nos exames andrológicos por categorias de idade (média± desvio padrão).....	68
Tabela 12: Distribuição das classificações dos exames andrológicos realizados e das causas de reprovação .....	69
Tabela 13: “Odds ratio” de aprovação dos touros com afeções seminais, alterações morfológicas ao nível dos órgãos reprodutivos e deficiências físicas.....	69

Tabela 14: Correlações entre os vários parâmetros avaliados em todos os touros e número de observações (n) .....	70
Tabela 15: Resultados da análise de variância para o perímetro testicular. ....	71
Tabela 16: Resultados da análise de regressão logística da aprovação dos machos .....	71
Tabela 17: “Odds ratio” de aprovação para a exteriorização do pênis .....	72
Tabela 18: Resultados da análise de variância da motilidade individual, da morfologia espermática e do teste de coloração vital.....	72
Tabela 19: Médias dos quadrados mínimos $\pm$ erro padrão para os vários parâmetros avaliados em função da raça .....	73

## Lista de abreviaturas e símbolos

BCS – <i>Body Condition Scoring</i>	Ext E – Exteriorização do pênis à eletroejaculação
BRSV – <i>Bovine Respiratory Syncytial Virus</i>	Ext P – Exteriorização do pênis à palpação transretal
BVD – <i>Bovine Viral Diarrhoea</i>	FAA - <i>fertility associated antigen</i>
BVDV – <i>Bovine Viral Diarrhoea Virus</i>	FSH – <i>follicle stimulating hormone</i>
CAMV – Centro de Atendimento Médico-Veterinário	GGT – Gama-glutamil transferase
CASA – <i>Computer-assisted sperm analysis</i>	GnRH – <i>Gonadotropin-releasing hormone</i>
CC – Condição corporal	IBR – <i>Infectious Bovine Rhinotracheitis</i>
CE – Circunferência escrotal	IBRV – <i>Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus</i>
DIV – Divisão de Intervenção Veterinária	IA – Inseminação artificial
DIVA – <i>Distinguishing Infected from Vaccinated Animals</i>	IDT – Intradermotuberculinização
DGAV – Direção Geral de Alimentação e Veterinária	Ind. – individual
DNA – Ácido Desoxirribonucleico	INE – Instituto Nacional de Estatística
DSSPA – Direção de Serviços de Saúde e Proteção Animal	IM – Intramuscular
eCG – <i>Equine chorionic gonadotropin</i>	LH – <i>Luteinizing hormone</i>
EDTA – <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>	OIE – <i>Office International des Épizooties</i>
EEJ – Eletroejaculação	OPG – Ovos por grama de fezes
ELISA – <i>Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay</i>	OPP – Organização de Produtores Pecuários
EPD – <i>Expected progeny difference</i>	PCC – Pontuação da Condição Corporal
	PCR – <i>Polymerase chain reaction</i>

PSL – Puro Sangue Lusitano

PT – Perímetro testicular

RX – raio-X

spz – espermatozóides

SFT – *Society for Theriogenology*

SNIRA – Sistema Nacional de  
Identificação e Registo Animal

UI – Unidades Internacionais

VetAl – VetAl Clínica Veterinária do Alto  
Alentejo

WC – *Western Canadian Association of  
Bovine Practitioners*

% - Percentagem

## **1. Introdução**

Este relatório refere-se ao estágio curricular de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora. O estágio foi realizado na Clínica Veterinária do Alto Alentejo (VetAl) em Portalegre de 1 de agosto de 2011 a 31 de janeiro de 2012 sob a orientação da Doutora Maria Cristina Queiroga e a co-orientação do Dr. Rui Martelo.

O objetivo do estágio foi adquirir competências no âmbito do trabalho prático do médico veterinário de espécies pecuárias e equinos, particularmente no que diz respeito a planos sanitários e profiláticos e a intervenção clínica; pretendeu-se também integrar esta atuação de acordo com as obrigações legais do médico veterinário.

O estágio permitiu ter contacto diário com os produtores de ruminantes, suínos e criadores e proprietários de equinos. Foi possível através do acompanhamento dos casos clínicos a aplicação prática dos conhecimentos teóricos adquiridos durante o curso, tendo sido possível o contacto com várias situações novas.

Durante o estágio escolheu-se como caso de estudo a avaliação da função reprodutiva de touros por se ter percebido que é um tema com muita importância prática na assistência às explorações de bovinos de carne. Assim, compilaram-se os dados dos exames andrológicos realizados desde 2008 a 2012 pela VetAl para tentar caracterizar a população de reprodutores nesta zona de Portugal.

### **1.1. Apresentação do local de estágio**

A VetAl possui um centro de atendimento médico-veterinário (CAMV) com instalações próprias para este fim e serviço domiciliário nas espécies pecuárias. Existem serviços comuns para várias espécies, como o laboratório de análises clínicas (equipado com microscópio ótico, aparelho de hemograma e equipamento para análises bioquímicas), e meios complementares de diagnóstico imagiológico, designadamente equipamento de raio-X e ecógrafo.

O CAMV possui ainda duas unidades móveis para as deslocações, um veículo comercial e um veículo todo-o-terreno equipado com um centro veterinário móvel, permitindo o transporte organizado do equipamento habitualmente utilizado no



atendimento dos casos clínicos. O veículo todo-o-terreno está preparado para acoplar um reboque para o transporte de equinos, nas situações em que é necessário.

A equipa da VetAl é constituída por cinco médicos veterinários (Alexandra Romão, Ricardo Romão, Rui Martelo, Diogo Paralta e Hédio Alegria), por três enfermeiras veterinárias (Ana Brito, Marina Dias e Patrícia Peralta) e uma auxiliar (Ida Carrilho).

As principais áreas abordadas durante o estágio foram a profilaxia e sanidade, a clínica e reprodução de espécies pecuárias e de equinos.

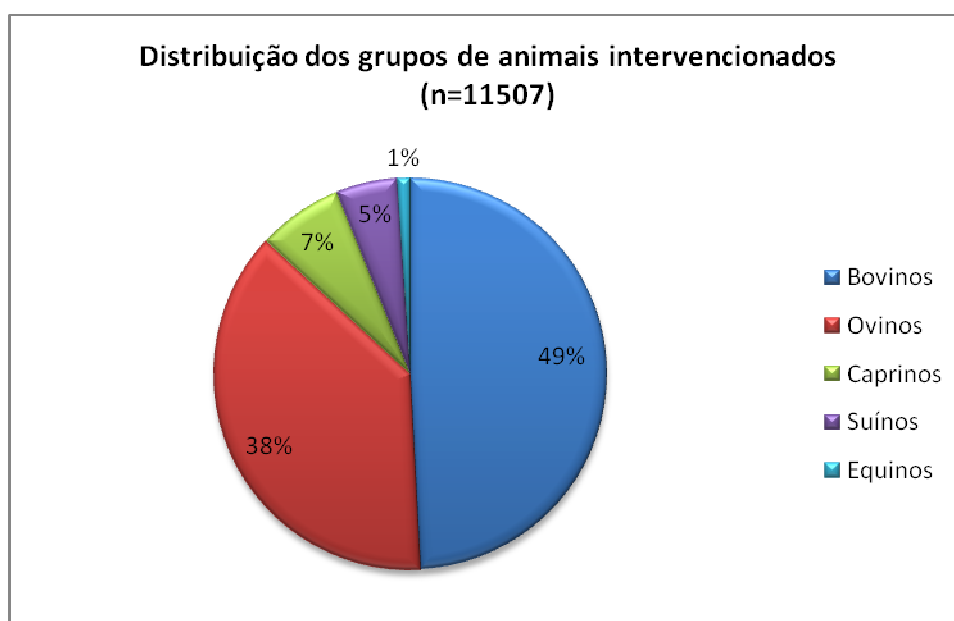
## 2. Casuística

### 2.1. Distribuição das intervenções realizadas nas várias espécies animais

Neste capítulo serão apresentados os dados relativos à casuística acompanhada durante os seis meses de estágio com base nos apontamentos diários efetuados ao longo do mesmo. Na Tabela 1 e Gráfico 1 apresentam-se o número e distribuição dos animais intervencionados das várias espécies.

**Tabela 1: Número de animais acompanhados nas diferentes espécies e respetivas percentagens**

Espécie	Número de animais intervencionados	Frequência relativa
Bovina	5656	49%
Ovina	4339	38%
Caprina	807	7%
Suína	581	5%
Equina	124	1%
Total	11507	100%



**Gráfico 1: Distribuição dos animais intervencionados por espécie (n=11507)**

Realizaram-se mais intervenções em bovinos e em ovinos, sendo a representação destas espécies 49 e 38 %, respetivamente, quando analisamos a frequência relativa dos animais.

No Norte do Alentejo existem grandes efetivos bovinos com aptidão para a produção de carne que são explorados em sistema extensivo. Verifica-se o mesmo para os ovinos embora no número representado estejam presentes alguns rebanhos de aptidão leiteira de grandes dimensões. Os efetivos caprinos e suínos, aos quais foram prestados serviços, eram de número mais reduzido, sendo a dimensão média dos efetivos de 200 a 300 animais por exploração.

Os equinos intervencionados, sobretudo pertencentes a várias coudelarias, eram principalmente da raça Puro Sangue Lusitano (PSL). A exigência dos criadores leva a aperfeiçoamento contínuo dos programas profiláticos e assistência médico-veterinária, que nesta espécie assume um carácter de tratamento individualizado adaptado ao tipo de manejo e aptidão do animal.

## **2.2 Profilaxia**

A prevenção de doenças infecciosas e parasitárias tem uma importância económica grande na gestão das explorações sendo, neste trabalho, o médico veterinário parceiro do produtor e/ou do gestor da exploração quando se trata dos efetivos de animais de produção (bovinos, ovinos, caprinos e suínos). As intervenções profiláticas têm que ser planeadas de acordo com o manejo praticado e objetivo produtivo da exploração, condições ambientais, agentes infecciosos e parasitas presentes. O sucesso destas intervenções traduz-se na redução do número de animais doentes que necessitam tratamento, na redução das taxas de mortalidade e morbilidade e na melhoria dos índices produtivos e reprodutivos. Os planos de vacinação serão abordados após a contabilização das intervenções realizadas em cada espécie.

### **2.2.1 Controlo das doenças infecciosas**

O controlo de uma variedade de doenças virais e bacterianas consegue-se através da vacinação dos efetivos. A vacinação é um processo de imunização ativa. O objetivo da vacinação é providenciar imunidade efetiva pela formação de um nível adequado de

anticorpos específicos e uma população de células de memória capazes de serem rapidamente ativadas aquando de contacto repetido com o antigénio em questão (Roitt, 1994).

Através da vacinação de efetivos pretende-se minimizar ao nível do rebanho as consequências económicas das doenças infecciosas (Baker, 2004).

As vacinas utilizadas podem ser vivas ou inativadas ou podem conter apenas parte do microrganismo quando se trata de vacinas de subunidades. As vacinas vivas atenuadas têm capacidade de replicação, podendo possuir uma virulência residual. O microrganismo modificado mimetiza o comportamento natural do microrganismo original (Roitt, 1994). Segundo Roitt (1994) as vacinas vivas atenuadas podem ser:

- Microrganismos atenuados de forma clássica: normalmente através do cultivo em células que o agente habitualmente não infeta, no caso de vírus, ou em meios de cultura adversos, no caso das bactérias;
- Vacinas geneticamente modificadas: vacinas deletadas ou marcadas. Esta tecnologia pode permitir a distinção entre animais vacinados e infetados, conceito conhecido como DIVA (*distinguishing infected from vaccinated animals*), pela diferença da resposta imunitária induzida nos dois casos (Kahn, 2011).

As vacinas inativadas contêm agentes infecciosos mortos, que conservam as suas propriedades antigénicas, sendo estas menos imunogénicas que as vacinas vivas, e não têm capacidade de replicação, necessitando normalmente da utilização de adjuvantes (Roitt, 1994).

No caso das vacinas de subunidades não está presente o microrganismo inteiro. O agente etiológico pode conter vários antigénios que não são necessários para a resposta imunitária protetiva, podendo ter vantagens a vacinação com antigénios isolados. Segundo Roitt (1994) as vacinas de subunidades podem ser:

- Componentes purificados: as exotoxinas bacterianas inativadas por tratamento térmico ou químico, conhecidas como toxoide;
- Antigénios sintetizados por organismos geneticamente modificados através da inserção de genes expressos num vetor adequado;

- Peptídeos sintéticos que mimetizam antígenos podem ser fabricados em certos casos.

A vacinação contra as espécies patogénicas pertencentes ao género *Clostridium* é um ponto comum entre os planos vacinais de bovinos, pequenos ruminantes e suínos. Visto que causam uma variedade de doenças nos animais de produção referidos, apresenta-se um resumo das principais espécies patogénicas e das doenças causadas por estas (Tabela 2). Trata-se de bactérias Gram-positivas, anaeróbias, bacilos grandes esporogénios. Distinguem-se clostridioses neurotóxicas, histotóxicas e espécies produtoras de enterotoxinas (Malone, 2004).

**Tabela 2: Doenças causadas por espécies patogénicas de *Clostridium***  
(adaptado de Mainil, 2006; Malone, 2004)

Toxicidade	Espécies de <i>Clostridium</i> : doença causada	Animais afetados
<b>Neurotóxicas</b>	<i>Cl. botulinum</i> : botulismo	Várias espécies
	<i>Cl. tetani</i> : tétano	Várias espécies
<b>Histotóxicas</b>	<i>Cl. chauvoei</i> : carbúnculo sintomático	Bovinos, ovinos
	<i>Cl. septicum</i> : edema maligno, abomasite (Braxy)	Ruminantes e outras espécies
	<i>Cl. novyi</i> : hepatite necrosante, associado a tremátodos	Ruminantes
	<i>Cl. haemolyticum</i> : hemoglobinúria bacilar, associado a Fasciola	Grandes ruminantes
	<i>Cl. sordellii</i> : gangrena	Ruminantes, equinos
<b>Produtoras de enterotoxinas</b>	<i>Cl. perfringens</i> tipo A: enterotoxémia, abomasite (Toxina $\alpha$ )	Vitelos, borregos, leitões
	<i>Cl. perfringens</i> tipo B: disenteria dos borregos, enterotoxémia, enterite necrótica, hemorrágica (Toxinas $\alpha$ , $\beta$ , $\epsilon$ )	Vitelos, borregos, leitões
	<i>Cl. perfringens</i> tipo C: enterotoxémia, enterite necrótica, hemorrágica (Toxinas $\alpha$ , $\beta$ )	Ovinos, bovinos, suínos
	<i>Cl. perfringens</i> tipo D: doença do rim pulposo, enterotoxémia (Toxinas $\alpha$ , $\epsilon$ )	Ovinos, vitelos

## 2.2.2 Controlo das doenças parasitárias nas várias espécies animais

Na VetAl realiza-se a monitorização regular do nível de endoparasitismo (principalmente parasitas gastrintestinais) das várias espécies animais através de exames coprológicos, nos quais participei de forma ativa. Durante o estágio foi organizada uma

palestra para produtores sobre a importância das parasitoses em bovinos que permitiu também a discussão deste tema com os técnicos de produção animal e produtores.

Os exames coprológicos realizados para cada amostra (amostras de grupo ou individuais) foram a sedimentação, para a pesquisa de ovos de tremátodos, e a flutuação para a pesquisa de formas parasitárias leves (ovos de nemátodos, ovos de céstodos e oocistos de protozoários). Os exames coprológicos individuais eram realizados em fezes provenientes de animais com sinais clínicos de afeção digestiva, com suspeita da presença de endoparasitas em níveis elevados, exceto nas amostras da espécie equina. No caso dos equinos, devido ao manejo ou número reduzido de animais por proprietário, colheram-se amostras individuais para a monitorização de rotina do nível de endoparasitas. Nas outras espécies, para o acompanhamento dos efetivos, os exames realizaram-se em amostras de grupo. Nestes casos colheram-se fezes (Figura 1) ao mínimo de 5% dos animais pertencentes ao grupo, escolhidos de forma aleatória, que posteriormente foram homogeneizadas. Na Tabela 3 apresentam-se o número e tipo de amostras colhidas, por espécie, para a realização de exames coprológicos.



**Figura 1: Colheita de fezes da ampola retal de um bovino (fotografia original)**

**Tabela 3: Número de exames coprológicos realizados por espécie e tipo de amostra**

Espécie	Tipo de amostra	Número de amostras
Bovina	Grupo	28
	Individual	14
Ovina	Grupo	13
	Individual	1
Caprina	Grupo	0
	Individual	1
Suína	Grupo	1
	Individual	0
Equina	Grupo	3
	Individual	10
Total		71

Para as análises de sedimentação, a pesquisa foi feita por método qualitativo. As fezes foram diluídas a 1:15 num líquido de densidade inferior às formas parasitárias e, após sedimentação, observou-se uma amostra do sedimento por microscopia ótica a 40x e 100x.

A pesquisa de formas parasitárias leves por flutuação foi realizada pelo método qualitativo de *Willis* (Figura 2) e pelo método quantitativo recorrendo à utilização da câmara de *McMaster* (Figura 3). As fezes foram diluídas a 1:15 com solução salina saturada para estes procedimentos. Após filtração encheu-se a câmara de *McMaster* e um tubo de ensaio. Foi colocada uma lamela sobre o tubo de ensaio para aderirem as formas parasitárias que subiram para a superfície após 10 minutos de repouso. A lamela colocou-se sobre uma lâmina, que foi observada a microscopia ótica a 40x e 100x, terminando a avaliação qualitativa com o registo das formas parasitárias presentes. A contagem das formas parasitárias realizou-se através da observação da câmara de *McMaster* ao fim de 8-10 minutos de repouso a microscopia ótica a 40x e 100x. Após registo do número das diferentes formas parasitárias presentes, calculou-se o número dos mesmos para um grama de fezes.



**Figura 2: Pesquisa de formas parasitárias leves pelo método de Willis** (fotografia original)



**Figura 3: Contagem de ovos na câmara de McMaster** (fotografia original)

As formas parasitárias mais frequentemente observadas foram os ovos de nemátodos gastrintestinais - ovos do tipo estrôngilo (Figura 4) - em todas as espécies. Nos bovinos e nos ovinos observaram-se, em alguns casos, ovos de céstodos da espécie *Moniezia* sp. (Figuras 5 e 6). A presença de oocistos de protozoários (coccídeas) verificou-se em efetivos de bovinos, ovinos e suínos (Gráfico 2). Não foram observados ovos de tremátodos em nenhum dos casos. Os resultados expressaram-se em ovos por grama de fezes (OPG) e oocistos por grama de fezes no caso das coccídeas. As desparasitações foram realizadas (ou não) de acordo com os resultados dos exames coprológicos (Tabela 4). Em qualquer dos casos a escolha teve também em conta o intervalo de segurança dos produtos, registando a aplicação no livro de registo de medicamentos, de acordo com o Decreto-Lei nº 148/2008 de 29 de junho, alterado pelo Decreto-Lei nº 314/2009 de 28 de outubro.

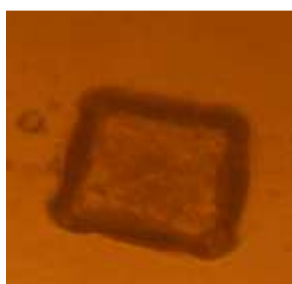


**Tabela 4: Níveis de eliminação de ovos por grama de fezes nas várias espécies animais e limiar de tratamento** (adaptado de Madeira de Carvalho, 2001, citado por Duro, 2010; Taylor, 2010; Abbott *et al.*, 2009)

Espécie	Níveis de eliminação de OPGs			Limiar de tratamento
	Fraco	Médio	Forte	
<b>Equina</b>	0-450	500-1000	>1000	250-500
<b>Bovina</b>	0-100	200-700	>700	300-600
<b>Ovina</b>	0-500	500-1500	>1500	750-1500



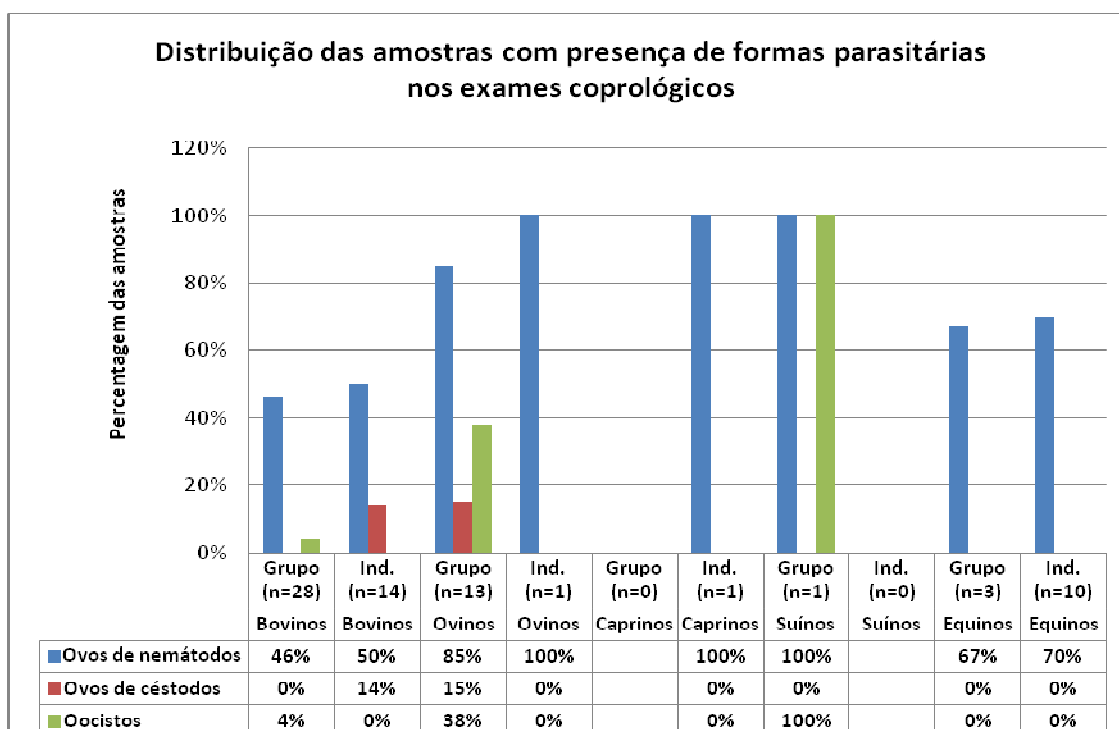
**Figura 4: Ovo do tipo estrongilo em fezes de equino** (fotografia original)



**Figura 5: Ovo de *Moniezia* em fezes de bovino** (fotografia original)



**Figura 6: *Moniezia* adulto proveniente de fezes de bovino** (fotografia original)



**Gráfico 2: Distribuição das amostras com presença de formas parasitárias nos exames coprológicos de grupo e individuais (Ind.)**

No caso dos bovinos os desparasitantes mais utilizados foram o Vectimax<sup>®</sup> e Noromectin<sup>®</sup>. Tratam-se de soluções injetáveis, cujo princípio ativo, em ambos os casos, é a ivermectina. A ivermectina é um endectocida que atua contra nemátodos gastrintestinais, pulmonares e oculares, larvas de muscídeos, ácaros de sarna e piolhos. Este fármaco administrou-se por via subcutânea numa dose de 0,2 mg/kg de peso vivo. Para o tratamento contra céstodos foi necessário recorrer a utilização de benzimidazóis; utilizou-se Panacur<sup>®</sup> por via oral, cujo princípio ativo é o febendazol, numa dose de 7,5 mg/kg de peso vivo.

Nos ovinos os desparasitantes mais utilizados foram o Vectimax<sup>®</sup>, utilizando a mesma dose e via de administração do que nos bovinos, e o Seponver Plus<sup>®</sup> (administrado por via oral numa dose de 15 mg/kg de peso vivo de mebendazol, e 10 mg/kg de peso vivo de closantel) e Panacur<sup>®</sup> 2,5% (via oral, dose utilizada: 5 mg/kg de peso vivo).

No caso dos suínos utilizou-se Vectimax<sup>®</sup> ou Noromectin<sup>®</sup> por via subcutânea numa dose de 0,3 mg/kg de peso vivo.

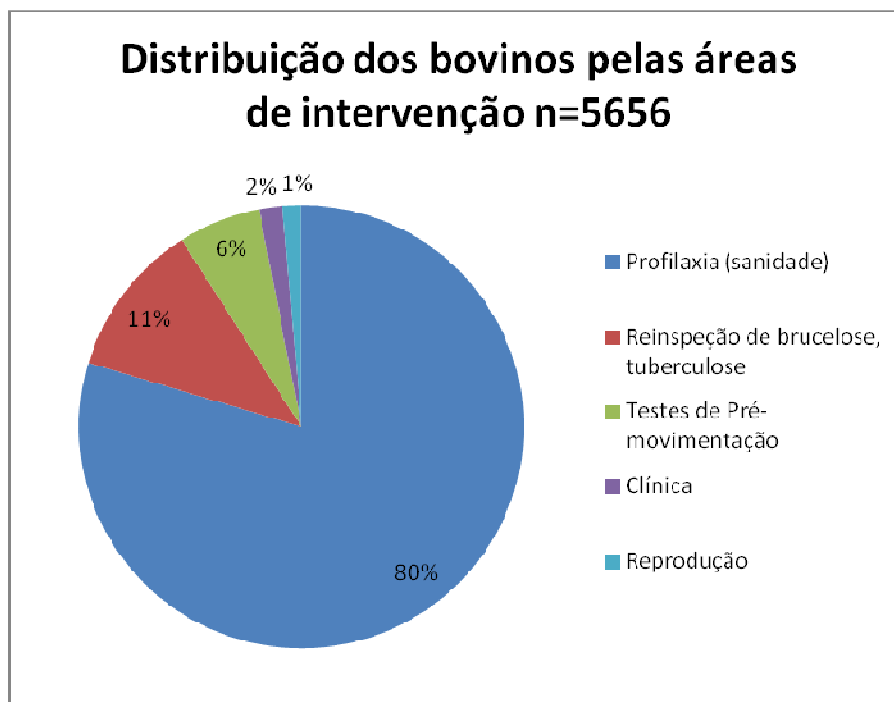
Nos equinos utilizaram-se principalmente ivermectinas para o controlo dos parasitas externos e internos, como por exemplo Eqvalan<sup>®</sup> (pasta oral, 0,2 mg/kg de peso vivo).

Nos casos de níveis elevados de oocistos utilizaram-se coccidiostáticos com os princípios ativos diclazuril e toltrazuril, dependendo dos produtos disponíveis autorizados para cada espécie.

O controlo de ectoparasitas foi realizado ou através de endectocidas, quando a presença de endoparasitas justificava, ou então através de banhos de Taktic<sup>®</sup> (princípio ativo amitraz) nos bovinos (produto contraindicado nos equinos).

### **2.3 Casuística – bovinos**

No caso dos bovinos predominaram as intervenções profiláticas, muitas destas decorrentes das intervenções oficiais previstas no Plano Nacional de Saúde Animal, constituindo 80% das ações médico-veterinárias. Intervencionaram-se 11% dos animais nas reinspecções de brucelose e tuberculose e 6% nos testes de pré-movimentação (Gráfico 3). Para além das intervenções oficiais e profiláticas realizaram-se mais intervenções de assistência reprodutiva, incluindo aqui os exames andrológicos e os diagnósticos de gestação por palpação transretal e ultrassonografia.



**Gráfico 3: Representação gráfica da distribuição relativa de bovinos pelas áreas de intervenção (n=5656)**

### 2.3.1 Programa sanitário oficial das explorações de bovinos

Para as explorações de bovinos, fazem parte do controlo sanitário oficial em Portugal o rastreio de brucelose e tuberculose bovina, bem como de leucose enzoótica bovina.

A brucelose bovina é causada principalmente pela bactéria *Brucella abortus*, existindo alguns isolados de *Brucella mellitensis* em bovinos em Portugal (Direção de Serviços de Saúde e Proteção Animal [DSSPA], 2011a).

A brucelose causa aborto nas fêmeas e orquite e epididimite no macho, levando à falha reprodutiva. A infeção pode ser persistente, com excreção da bactéria pelo trato reprodutivo e no leite. Trata-se de uma zoonose (Radostits *et al.*, 2006).

O controlo dos efetivos realiza-se nos bovinos com mais de 12 meses de idade através de provas serológicas: testes de Rosa Bengala e de Fixação de Complemento com intervalos mínimos de três meses e não superiores a doze meses em efetivos indemnes e oficialmente indemnes, de acordo com o Decreto-Lei nº 244/2000 de 27 de setembro (DSSPA, 2011a). A colheita de sangue para as provas serológicas realiza-se normalmente da veia coccígea média dos bovinos para tubos secos (Figura 7). Os tubos

são identificados com o número oficial do animal e com o número de sequência da colheita. As amostras de sangue após a colheita são refrigeradas e entregues na Organização de Produtores Pecuários (OPP) que se encarrega do envio das amostras para o laboratório.

A classificação sanitária atualmente em vigor (DSSPA, 2011a) é a seguinte:

- B2: efetivo não indemne de brucelose, sendo os efetivos identificados com classificação B2.1, quando existe isolamento e identificação de bactéria do género *Brucella* nos animais positivos no exame serológico na exploração, nos exames laboratoriais *post mortem* ou outros;
- B3: efetivos indemnes;
- B4: efetivos oficialmente indemnes.



**Figura 7: Colheita de amostra de sangue da veia coccígea média dum bovino**  
(fotografia original)

A leucose enzoótica bovina é uma doença viral causada pelo vírus da leucemia bovina, afeta bovinos adultos, que desenvolvem neoplasia dos linfócitos e linfonodos. A infeção transmite-se por contacto com sangue contaminado proveniente de animal infetado (Kahn, 2011).

O programa de erradicação aplica-se em todo o território nacional de acordo com o Decreto-Lei nº 114/99 de 14 de abril. O controlo sorológico dos efetivos realiza-se nos bovinos com mais de 24 meses uma vez por ano, nos efetivos oficialmente indemnes, e

com mais de 12 meses nos efetivos não indenes. A prova do diagnóstico realiza-se por imunoadsorção enzimática (ELISA – *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*) (DSSPA, sem data).

Os estatutos sanitários existentes são:

- L2 – infetada;
- L3 – não indene;
- L4 – oficialmente indene.

A tuberculose bovina é uma doença crónica causada, nos bovinos, pela bactéria *Mycobacterium bovis*, podendo afetar várias espécies de mamíferos, incluindo o Homem. A via de infeção mais frequente é a inalatória. A transmissão aos animais novos, através do leite, é mais comum nas zonas endémicas já que a infeção da glândula mamária ocorre numa fase mais avançada da doença (Radostits *et al.*, 2006).

O controlo dos efetivos em Portugal realiza-se através da intradermotuberculinização (IDT) comparada dos bovinos com mais de 42 dias de idade de acordo com o Decreto-Lei nº 272/2000 de 8 de novembro. A prova consiste na inoculação intradérmica na tábua do pescoço do animal de 0,1 mL de tuberculina aviária e de 0,1 mL de tuberculina mamífera em dois locais distintos, a aproximadamente 12,5 cm de distância. Nos locais a inocular realiza-se tricotomia para marcar os locais da inoculação e regista-se a espessura da prega (mm) da pele (Figuras 8 e 9). Procede-se à leitura da prova 72 horas após a inoculação, comparando a espessura da prega da pele nos locais de inoculação com os índices iniciais, sendo considerados positivos os animais que apresentem reação mamífera igual ou superior a 5 mm à reação aviária, e sempre que existam sinais clínicos (DSSPA, 2009).

De acordo com a Direção de Serviços Veterinários da Região do Alentejo (DSVRA, 2010) os animais a testar nas explorações pertencentes à Divisão de Intervenção Veterinária (DIV) de Portalegre são todos os bovinos com mais de seis semanas de idade, já que a percentagem anual de efetivos confirmados como infetados com tuberculose é superior a 1%.

Os estatutos sanitários existentes são:

- T2 – efetivos não oficialmente indemnes, sendo a classificação T2.1 utilizada quando se trata de efetivos confirmados como infetados, pelo isolamento de *Mycobacterium bovis* a partir dos animais que reagiram não negativamente à prova de diagnóstico (duvidosos ou positivos).
- T3 – efetivos oficialmente indemnes.

Para a conservação do estatuto oficialmente indemne, a introdução de novos animais deve ser precedida por teste de pré-movimentação, garantindo a não introdução das doenças que fazem parte dos planos de erradicação nacionais. Quando a exploração de origem possui estatuto oficialmente indemne em todas as doenças (B4, T3, L4) é necessário o controlo sorológico para brucelose bovina a partir dos 12 meses de idade, para a leucose bovina a partir dos 24 meses de idade e a IDT, para a tuberculose bovina, a partir dos 12 meses de idade, no momento, nos 30 dias anteriores à movimentação dos animais. Os animais só poderão ser introduzidos na exploração oficialmente indemne se o resultado for negativo em todas as provas de diagnóstico (DSSPA, 2009).



**Figura 8: Medição da espessura da prega cutânea para a prova de IDT num bovino**  
(fotografia original)



**Figura 9: Material necessário para a realização da prova de IDT**  
(fotografia original)

### 2.3.2 Vacinação de bovinos

Os efetivos bovinos intervencionados ao longo do estágio eram principalmente efetivos criados em extensivo para a produção de carne, com venda de vitelos ao desmame ou após um período curto de engorda diretamente para abate. Em alguns casos tratava-se de pequenos núcleos de acabamento (inferior a 50 animais na mesma exploração).

Os principais agentes infecciosos contra os quais são imunizados estes efetivos são: *Clostridium sp.*, vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBRV – *Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus*), vírus da diarreia viral bovina (BVDV – *Bovine Viral Diarrhoea Virus*), vírus respiratório sincicial bovino (BRSV - *Bovine Respiratory Syncytial Virus*), vírus da parainfluenza-3.

A vacinação contra *Clostridium*, na maioria dos efetivos realiza-se semestralmente com uma das vacinas apresentadas na Tabela 5, e administração por via subcutânea (Figuras 10 e 11).

**Tabela 5: Comparação da constituição antigénica das vacinas utilizadas no controlo de clostridiose nos bovinos**

	Covexin 10 <sup>®</sup>	Covexin 8 <sup>®</sup>	Miloxan <sup>®</sup>	Multivac 9 <sup>®</sup>	Clostrivax <sup>®</sup>
<i>Cl. perfringens</i> toxóide α	+	-	-	+	-
<i>Cl. perfringens</i> toxóide β	+	+	+	+	+
<i>Cl. perfringens</i> toxóide ε	+	+	+	+	+
<i>Cl. chauvoei</i>	+	+	+	+	+
<i>Cl. novyi</i>	+	+	+	+	+
<i>Cl. tetani</i>	+	+	+	+	+
<i>Cl. sordelli</i>	+	-	+	+	-
<i>Cl. haemolyticum</i>	+	+	-	-	-
<i>Cl. septicum</i>	+	+	+	+	+

+:a vacina possui valência contra o microrganismo/toxina

-:a vacina não possui valência contra o microrganismo/toxina

A vacinação contra os vírus IBRV, BVDV, BRSV e vírus da parainfluenza-3 realizou-se com Hiprabovis 4<sup>®</sup>, que se administra por via intramuscular (3mL/animal), realizando a revacinação anualmente nos efetivos.



**Figura 10: Inoculação subcutânea num bovino**  
(fotografia original)

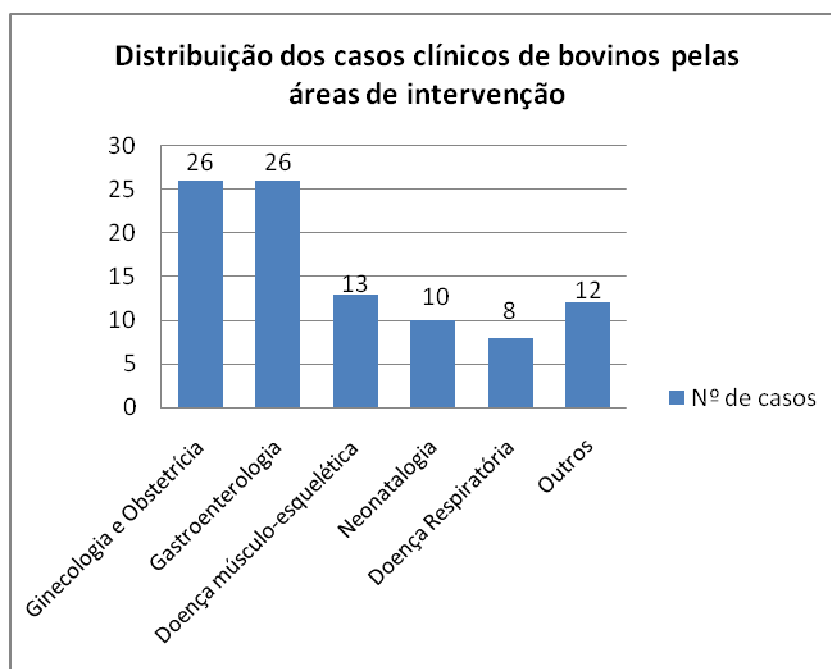


**Figura 11: Inoculação subcutânea num vitelo** (fotografia original)

### 2.3.3. Casos clínicos de bovinos

O maior número de casos clínicos ocorreu na área de ginecologia e obstetrícia e de gastroenterologia (Gráfico 4). Nesta área os casos mais frequentes foram os partos distócicos, seguidos das retenções de membranas fetais, prolapsos vaginais e, em menor número, os casos de prolapso uterino e cesariana.

Na área da gastroenterologia, na maioria dos casos, tratava-se de síndromes diarreicas em adultos normalmente de origem parasitária. Assistiram-se, em menor número, casos de timpanismo ruminal e de retículo-peritonite traumática.





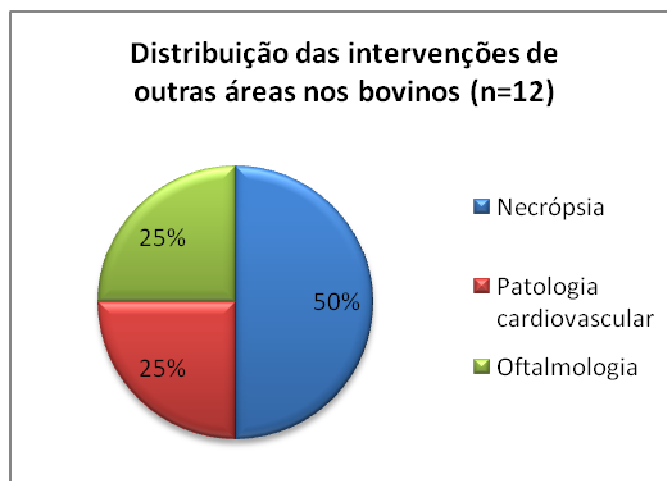
#### **Gráfico 4: Representação gráfica da distribuição do número dos casos clínicos de bovinos pelas áreas de intervenção**

Nas doenças músculo-esqueléticas os sinais clínicos mais comuns eram a claudicação e a presença de feridas traumáticas. Em alguns casos estava presente fleimão ou lesão interdigital. Nas feridas traumáticas era frequente a presença de larvas de insetos no Verão.

Nos vitelos neonatos predominaram os casos de diarreia neonatal e de onfalite. Em alguns casos os vitelos apresentaram também poliartrite associada, normalmente com história compatível com a falha de transferência de imunidade passiva. Os principais agentes infecciosos envolvidos nas diarreias neonatais de origem viral são rotavírus e coronavírus; as bactérias mais frequentemente associadas são *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. e *Clostridium perfringens*, sendo *Cryptosporidium parvum* o mais importante nos protozoários (Scott *et al.*, 2004). No entanto, nas coprologias realizadas não se encontraram oocistos de coccídeos.

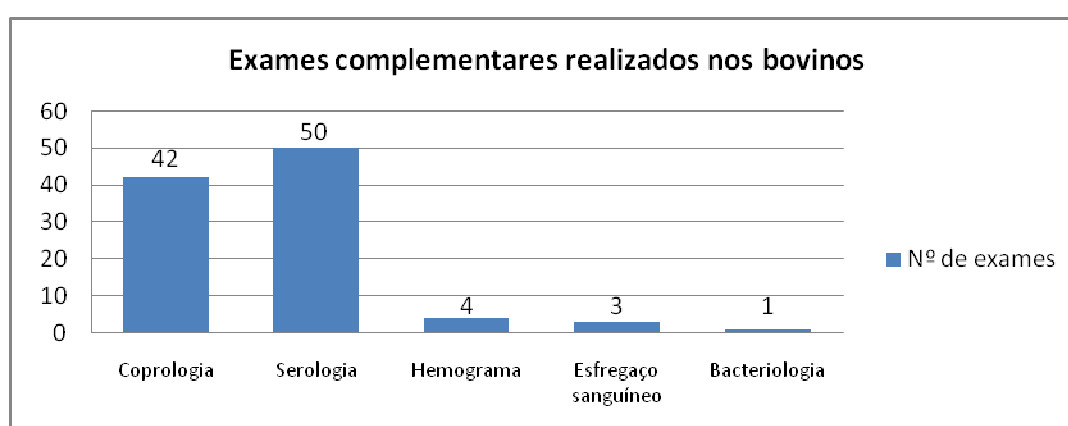
Nas doenças respiratórias as afeções de trato respiratório superior com presença de traqueíte e as afeções do trato respiratório inferior com alteração da auscultação pulmonar estavam presentes em número igual.

Nas outras intervenções (Gráfico 5) estão incluídas as necrópsias realizadas, os casos de Oftalmologia e as afeções do sistema circulatório em consequência de infeção por hemoparasitas. Nas necrópsias realizadas as lesões mais frequentes eram intestinais, características dos casos de infeções por *Clostridium perfringens*. Observaram-se ainda, em menor número, lesões pulmonares.



**Gráfico 5: Distribuição das intervenções de outras áreas nos bovinos (n=12)**

Relativamente a exames complementares, os exames serológicos foram os exames complementares realizados em maior número (Gráfico 6). Estes permitem a deteção dos anticorpos específicos, dando informação em relação ao contacto prévio com o agente etiológico. Durante o estágio estes exames foram pedidos principalmente nos casos de suspeita da presença dos IBRV e/ou BVDV, para decidir a necessidade de vacinação do efetivo. Nos casos com sinais clínicos compatíveis com infeção por hemoparasitas (anemia, icterícia, febre) foram realizados hemograma e esfregaço sanguíneo. Os exames coprológicos realizados já foram referidos noutra capítulo no âmbito parasitológico.

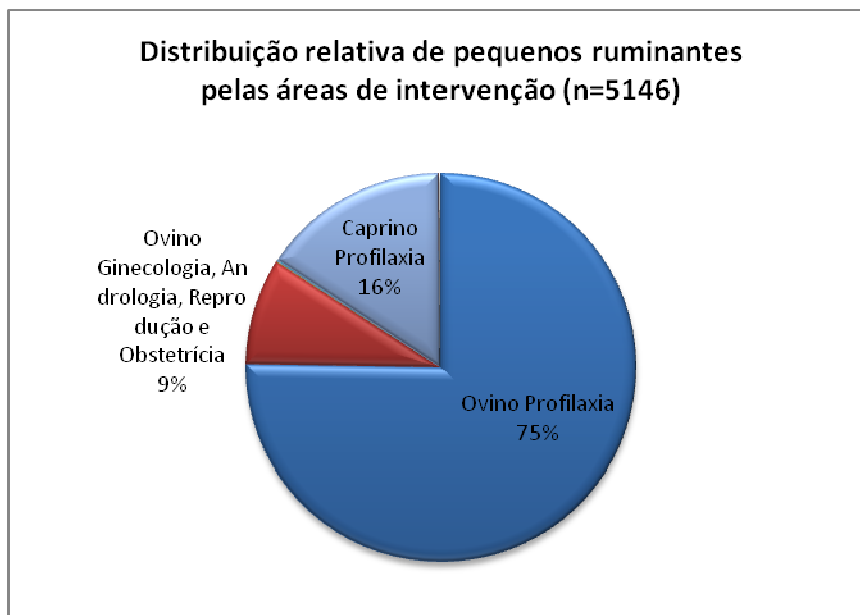


**Gráfico 6: Exames complementares realizados nos bovinos**

## 2.4. Casuística – Pequenos ruminantes

Nos pequenos ruminantes, devido ao valor económico de cada animal, os tratamentos individuais eram raros, tendo sido predominantes as intervenções ao nível do rebanho. A maioria dos efetivos de ovinos era constituída por rebanhos em sistema extensivo para a produção de carne. Intervencionaram-se também alguns efetivos de aptidão leiteira, estes mantidos em sistema intensivo. Os efetivos caprinos eram em número reduzido incluindo efetivos maiores de produção de leite e efetivos pequenos para a produção de carne.

A maioria das intervenções nos pequenos ruminantes (Gráfico 7) constou de ações profiláticas em ovinos, ligadas em muitos casos às intervenções oficiais previstas no Plano Nacional de Saúde Animal, constituindo 75% das intervenções. O número de caprinos intervencionados foi bastante inferior ao número de ovinos sendo, nesta espécie, a profilaxia também a principal área de intervenção.



**Gráfico 7: Representação gráfica da distribuição relativa de pequenos ruminantes pelas áreas de intervenção (n=5146)**

#### **2.4.1. Programa sanitário oficial das explorações de pequenos ruminantes**

Nas explorações de ovinos e caprinos em Portugal é obrigatório o rastreio da brucelose através de controlo serológico dos efetivos. Até 1 de janeiro de 2012, de acordo com o Edital n.º 28 da Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), também fez parte do programa sanitário oficial a vacinação dos efetivos ovinos contra o serótipo 1 da febre catarral ovina ou língua azul (DGAV, 2011a).

##### **2.4.1.1 Brucelose dos pequenos ruminantes**

Nos pequenos ruminantes a brucelose é causada pelas bactérias *Brucella mellitensis* e *Brucella ovis*, causando falha reprodutiva como já foi referido nos bovinos. Trata-se de uma zoonose (DSSPA, 2011b; Radostits *et al.*, 2006).

O controlo dos efetivos de pequenos ruminantes realiza-se em animais com mais de 6 meses de idade através de provas serológicas: testes de Rosa Bengala e de Fixação de Complemento com intervalos mínimos de três meses e não superiores a doze meses em efetivos indemnes e oficialmente indemnes. O controlo pode ser realizado por amostragem no efetivo quando se trata de efetivos indemnes ou oficialmente indemnes e quando localizados em áreas geográficas onde 99,8% dos rebanhos tenha tido classificação oficialmente indemne (DSSPA, 2011b).

Nas áreas geográficas consideradas de risco e nas explorações infetadas procede-se a vacinação conjuntival dos jovens, existindo regras específicas nestes casos para os controlos serológicos quanto aos animais a controlar, os intervalos com que a testagem é feita e a idade mínima dos animais a intervencionar (DSSPA, 2011b).

De acordo com DSSPA (2011b) a classificação das explorações segundo o estatuto sanitário quanto à presença da brucelose nos pequenos ruminantes é:

- B2: efetivo não indemne de brucelose, sendo os efetivos identificados com classificação B2.1, quando existe isolamento e identificação de bactéria do género *Brucella* nos animais positivos nos testes serológicos na exploração, nos exames laboratoriais *post mortem* ou outros. Esta classificação é usada para o cálculo da incidência nos relatórios técnicos (DSSPA, 2011b);
- B3: efetivos indemnes;

- B4: efetivos oficialmente indenes.

#### **2.4.1.2 Febre Catarral Ovina**

A febre catarral ovina ou língua azul é uma doença infecciosa, não contagiosa, não transmissível aos humanos, é causada por um arbovírus pertencente à família *Reoviridae*. Existem 24 serótipos conhecidos variando a virulência com os serótipos. A doença tem transmissão vetorial entre ruminantes suscetíveis através de insetos pertencentes ao género *Culicoides*, sendo a espécie ovina a mais afetada (*Office International des Épizooties* [OIE], 2009).

A forma aguda da doença normalmente só aparece nos ovinos, sendo a infeção inaparente nas outras espécies. Os sinais clínicos de infeção aguda são febre elevada, hiperémia e congestão da face, pálpebras e língua, com consequente edema, ulceração e necrose bucal, claudicação devida à afeção da banda coronária, corrimento nasal, aborto e eventualmente morte do animal (OIE, 2009).

Em Portugal a vacinação tem acompanhado a evolução epidemiológica dos serótipos circulantes no território nacional continental. Entre 2004 e 2008 a variedade circulante era o serótipo 4 e a partir de 2007, até à data, o serótipo 1. A circulação viral tem sido monitorizada nos matadouros em bovinos e ovinos, estudos entomológicos, testes de pré-movimentação e nas suspeitas clínicas e planos de vigilância (DSSPA, 2012).

Até 1 de janeiro de 2012 era obrigatória a vacinação dos ovinos contra o serótipo 1. O esquema vacinal consistia na primovacinação do efetivo reprodutor de substituição através de 2 inoculações, com 21 dias de intervalo, e na revacinação anual dos ovinos adultos (DGAV, 2011a). Durante o estágio a vacina utilizada era a Syvazul 1<sup>®</sup> que foi administrada por via subcutânea 2 mL/animal. O mesmo esquema vacinal desde o início deste ano apenas é obrigatório em três concelhos (Castelo Branco, Idanha-a-nova, Vila Velha de Ródão) sendo possível e aconselhado pela DGAV a vacinação voluntária dos efetivos (DGAV, 2011c).

#### **2.4.2 Vacinação de pequenos ruminantes**

O plano geral das vacinações incluiu a imunização contra as clostridioses e pasteureloses. Nos efetivos leiteiros há ainda a referir as vacinações contra a agaláxia contagiosa.

As pasteureloses incluem várias doenças causadas pelas bactérias pertencentes ao género *Pasteurella* e outros géneros com bactérias anteriormente consideradas no género *Pasteurella*. Trata-se de bactérias Gram negativas sendo os principais agentes *Mannheimia* (*Pasteurella*) *haemolytica* e *Pasteurella multocida*. Estas bactérias normalmente participam em infeções secundárias do trato respiratório inferior após infeções virais primárias ou situações de *stress* (Gordon e Thomson, 2009).

As vacinas mais utilizadas nos ovinos foram a Enterovina<sup>®</sup> e a Heptavac Plus<sup>®</sup> (Tabela 6).

**Tabela 6: Comparação da constituição antigénica das vacinas utilizadas no controlo de clostridioses e pasteureloses nos pequenos ruminantes**

	Enterovina <sup>®</sup>	Heptavac Plus <sup>®</sup>
<i>Cl. perfringens</i> toxóide $\alpha$	+	-
<i>Cl. perfringens</i> toxóide $\beta$	-	+
<i>Cl. perfringens</i> toxóide $\epsilon$	+	+
<i>Cl. chauvoei</i>	-	+
<i>Cl. novyi</i>	-	+
<i>Cl. tetani</i>	-	+
<i>Cl. sordelli</i>	+	-
<i>Cl. haemolyticum</i>	-	-
<i>Cl. septicum</i>	-	+
<i>M. haemolytica</i>	-	+
<i>P. multocida</i>	+	-
<i>P. trehalosi</i>	-	+

Nota: +:a vacina possui valência contra o microrganismo/toxina

-:a vacina não possui valência contra o microrganismo/toxina

Nos efetivos ovinos de aptidão leiteira efetuou-se vacinação contra agaláxia contagiosa cujo agente causal é *Mycoplasma agalactiae*, a vacina utilizada foi Micogaláxia<sup>®</sup>, que se administra por via subcutânea 2mL/animal (Figura 12).

### 2.4.3 Reprodução nos pequenos ruminantes

Para além das ações profiláticas a principal área de intervenção nos pequenos ruminantes foi a área de ginecologia, andrologia, reprodução e obstetrícia em ovinos. A maioria das atividades nesta área estava ligada a reprodução, incluindo sincronização de cio de ovelhas para posterior cobrição natural e diagnósticos de gestação.

O protocolo de sincronização consistia na introdução intravaginal de esponjas Chronogest<sup>®</sup> impregnadas com acetato de flugesterona – análogo sintético de progesterona – que após absorção pela mucosa vaginal atua por *feedback* negativo sobre o eixo hipotálamo-hipofisário, atuando da mesma forma que o corpo lúteo, suprimindo a libertação de gonadotrofinas pela hipófise anterior, que são responsáveis pela atividade ovárica cíclica. Após a remoção das esponjas a atividade ovárica cíclica restabelece-se. As esponjas eram retiradas ao fim de 12 dias nas ovelhas administrando, aquando da remoção, gonadotropina coriônica equina (eCG – *equine chorionic gonadotropin*) por via intramuscular para a estimulação do cio e da ovulação, sendo a dose recomendada entre 300 e 700 UI (Noakes, 2001a). No protocolo utilizou-se uma dose de 400 UI, com o objetivo de minimizar o risco de partos múltiplos

O diagnóstico de gestação realizou-se por ultrassonografia, com os animais em estação, colocando a sonda craniolateralmente ao úbere na zona glabra (Figura 13). A partir dos 35 dias de gestação pode ser possível a visualização do feto e dos batimentos cardíacos (Bazer *et al.*, 2007), sendo mais fácil, na prática, a identificação do feto a partir dos 45 dias de gestação.



**Figura 12: Administração de vacina por via subcutânea num ovino (fotografia original)**



**Figura 13: Diagnóstico de gestação em ovinos por ultrassonografia (fotografia original)**



## 2.5. Casuística - suínos

As intervenções realizadas em suínos foram quase exclusivamente no âmbito da profilaxia médica. Fora dessa atividade realizaram-se algumas necrópsias como auxiliar ao diagnóstico e tratamentos eventualmente necessários (Figura 14).

Nesta área geográfica, muitos suínos são explorados em sistema extensivo (montanha), normalmente entre 50 e 300 porcos por exploração.

Os efetivos foram vacinados (Figura 15) contra as enterotoxémias e mal-rubro. Para o controlo de clostridioses e pasteureloses utilizou-se uma vacina de rebanho.

Contra o mal-rubro utilizou-se Ruvax<sup>®</sup>, vacina inativada de *Erysipelothrix rhusiopathiae* serótipo 2, sendo a via de administração a via intramuscular (IM). Para primovacinação recomendam-se duas inoculações com 3-4 semanas de intervalo, sendo a revacinação realizada a cada 6 meses.

Várias visitas estiveram relacionadas com um problema de pasteurelose numa exploração, que levou à morte de 16% dos animais no grupo. Em muitos casos verificou-se apenas morte súbita, noutros casos existiram sinais de afeção respiratória com tosse e dispneia. Na necrópsia observaram-se exsudado e lesões pulmonares. O exame bacteriológico do pulmão revelou ser positivo a *Mannheimia haemolytica* e, após a produção da vacina de rebanho com esta estirpe, realizou-se nova vacinação. Neste caso a mistura de animais de várias proveniências e de idades diferentes contribuiu para a mortalidade elevada.



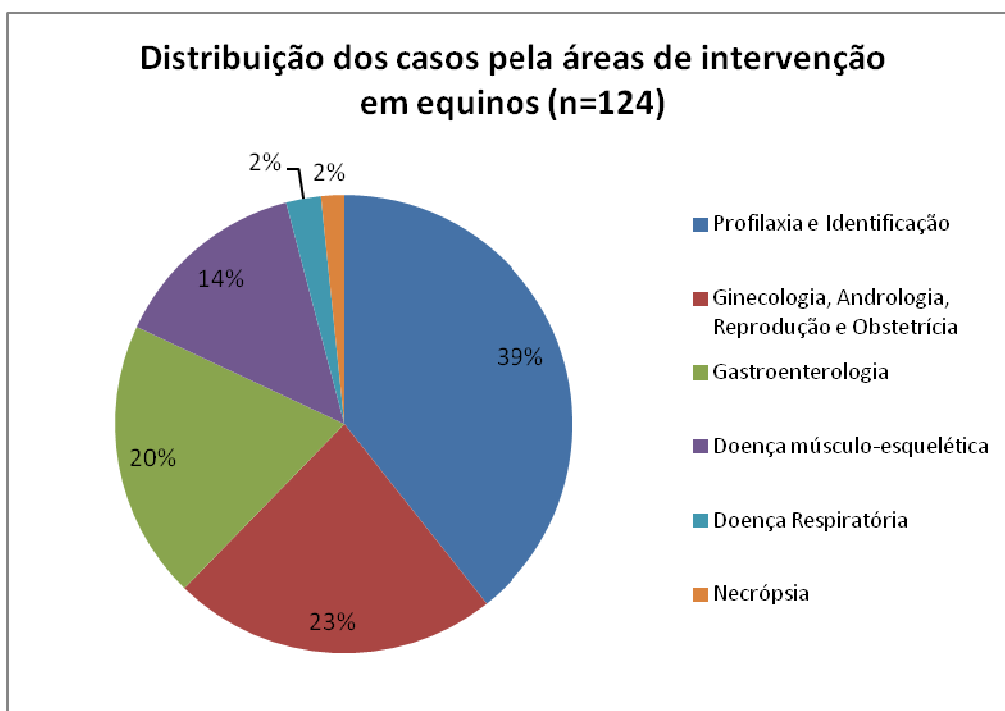
**Figura 14: Remoção de larvas de uma ferida num suíno (fotografia original)**



**Figura 15: Vacinação de suínos (fotografia original)**

## 2.6. Casuística – equinos

As principais áreas de intervenção nos equinos foram a profilaxia médica e identificação, ginecologia, andrologia, reprodução e obstetrícia, doenças músculo-esqueléticas, gastroenterologia e a estomatologia/ odontologia (Gráfico 8).



**Gráfico 8: Representação gráfica da distribuição dos casos pelas áreas de intervenção em equinos (n=124)**

A profilaxia médica e a identificação de equinos foram algumas das atividades principais realizadas ao longo do estágio.

O Regulamento (CE) nº 504/2008 de 6 de junho estabelece um quadro jurídico alargado para a identificação dos equinos na União Europeia. Nesta atividade os Médicos Veterinários são indispensáveis já que a DGAV só aceita a identificação dos equídeos quando efetuado por Médicos Veterinários inscritos na Ordem dos Médicos Veterinários Portugueses, tendo conhecimentos específicos na área da identificação equina (Barbosa, 2011).

As atividades incluídas nesta área foram a identificação eletrónica, elaboração de resenhas gráficos e descritivos e a colheita de sangue para tubos com EDTA (*Ethylenediamine tetraacetic acid*) com o objetivo de confirmação da filiação através de marcadores moleculares.

Segundo Barbosa (2011): “O microchip deve ser implantado por via parenteral (IM), em condições de assepsia a meio do ligamento nugal entre a nuca e o garrote do equídeo, sempre do lado esquerdo.”

Para a vacinação dos equinos utilizou-se a vacina EQUILIS Prequenza-TE<sup>®</sup> que contém toxóide tetânico e subunidades de hemaglutinina purificada dos vírus da influenza equina. Administra-se 1 mL por via intramuscular, iniciando o esquema vacinal a partir dos 6 meses de idade. A primovacinação consta de duas inoculações com 4 semanas de intervalo.

Na área da ginecologia, andrologia, reprodução e obstetrícia as principais atividades desenvolvidas foram o controlo folicular e diagnóstico de gestação por ultrassonografia nas éguas; e alguns casos em que foi necessário realizar lavagem uterina. O tratamento de feridas de origem traumática incluiu lavagem e sutura de feridas, aplicação de pensos, tratamento de complicações pelo aparecimento de larvas de insetos. Na área da gastroenterologia a maioria dos casos correspondeu a cólicas de várias origens como impactação, presença de areia e parasitismo. Na área de estomatologia/odontologia, a correção da mesa dentária (Figura 16) é cada vez mais solicitada pelos criadores.



**Figura 16: Correção da mesa dentária de uma égua**



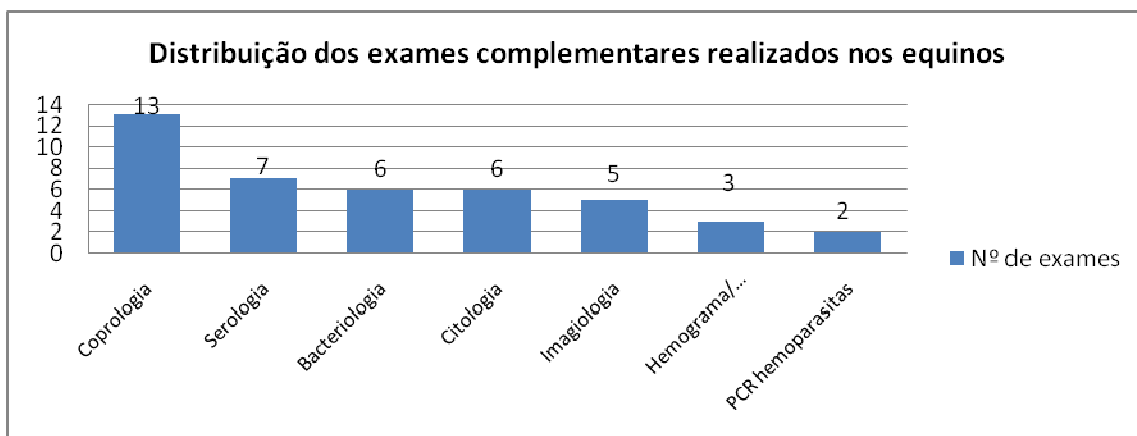
**Figura 17: Colheita de amostra para a pesquisa do agente da Metrite Contagiosa Equina**

Os exames complementares nesta espécie foram solicitados em maior proporção, devido ao valor económico dos animais e por se tratar de animais de desporto e lazer (Gráfico 9).

Nos casos de infertilidade de éguas foram pedidos exames serológicos para pesquisar os anticorpos contra o Herpesvírus equino 1 (EHV-1), bacteriologia (Figura 17) para a pesquisa do agente da metrite contagiosa equina (*Taylorella equigenitalis*) e análise citológica uterina.

Os exames radiográficos foram realizados em alguns casos de doença músculo-esquelética, bem como no exame em ato de compra.

Realizaram-se ainda hemogramas e análises bioquímicas sanguíneas em alguns casos de cólica e nos casos de suspeita de infeção por hemoparasitas. Nas análises bioquímicas sanguíneas os parâmetros avaliados por rotina eram a ureia, creatinina, fósforo, proteínas totais, fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase (GGT), bilirrubina total e ácido láctico. A confirmação da presença de hemoparasitas foi realizada por *polymerase chain reaction* (PCR) em laboratório externo.



**Gráfico 9: Distribuição dos exames complementares realizados nos equinos**

### **3. Avaliação do potencial reprodutivo de touros através do exame andrológico**

#### **3.1. Importância económica da fertilidade ao nível da exploração**

A rentabilidade económica das explorações bovinas de produção de carne depende principalmente da eficiência da produção de vitelos (Lopes da Costa, 2008) que, por sua vez, resulta da combinação da fertilidade das vacas, da fertilidade dos touros e do manejo reprodutivo e nutricional adequado dos animais (Hansen, 2006).

O objetivo geral de uma exploração de produção de carne é conseguir produzir um vitelo por vaca por ano. Como os vitelos são vendidos logo a seguir ao desmame ou após um certo período de engorda, interessa maximizar o número de vitelos desmamados ou vendidos e não apenas os nascidos.

Para atingir o objetivo pretendido, as vacas devem ter um manejo nutricional apropriado de forma a garantir a condição corporal adequada para as fases de cobrição, parto e lactação. A sobrevivência dos vitelos é influenciada pelo número de partos distócicos, pela capacidade maternal das vacas e pela prevalência de doenças que afetam o efetivo e os vitelos em particular. Os partos distócicos normalmente são mais frequentes nas novilhas, que parem pela primeira vez (Noakes, 2001b), existindo em muitas explorações cuidados de manejo próprios para as novilhas de reposição.

Como as vacas de carne são fecundadas por cobrição natural, na grande maioria dos casos, a fertilidade dos touros é um elemento chave na performance reprodutiva da vacada. Apenas um touro pode comprometer todo o sucesso reprodutivo (Perry *et al.*, 2008).

Alguns estudos indicam que o aumento de um ponto percentual nos índices reprodutivos gera um retorno de investimento até três vezes superior, para o produtor, quando comparado com o aumento de um ponto percentual na produção e/ou na *performance* produtiva (Hansen, 2006). No entanto, a escolha do touro muitas vezes

baseia-se apenas no potencial produtivo, não dando a devida importância ao potencial reprodutivo do mesmo.

Tendo em conta a importância económica dos reprodutores numa exploração produtora de carne, neste trabalho pretende-se rever os conhecimentos disponíveis em relação ao exame andrológico dos touros, ferramenta utilizada para prever a fertilidade potencial dos mesmos. Além disto, através da análise dos resultados obtidos entre 2008-2012 nos exames realizados pela equipa da VetAl, pretende-se conhecer a situação real, a este nível, em Portugal.

O exame andrológico dos touros é um exame relativamente rápido, simples e económico que tem como objetivo identificar os touros que podem ser reprodutores potenciais (Chenoweth, 2002). A utilização de touros que passaram no exame andrológico permite encurtar a época de cobrição, com diminuição da proporção de machos para fêmeas e com aumento do peso dos vitelos ao desmame, pelo fato de as vacas serem cobertas mais cedo na época de cobrição (LeaMaster e DuPont, 2007). A utilização de touros com sémen satisfatório pode resultar num aumento de 5 a 6% na percentagem de fêmeas gestantes (Hansen, 2006).

## **3.2. Maneio dos machos**

### **3.2.1. Maneio reprodutivo**

O maneio reprodutivo de uma exploração pode contemplar uma ou várias épocas de cobrição, definidas com uma duração de 3-6 meses, na maioria dos casos, sendo a outra opção a cobrição contínua, quando o touro permanece durante todo o ano com as vacas.

O estabelecimento de uma época reprodutiva resulta na concentração dos partos e, em consequência, no desmame dos vitelos num período de tempo preciso. Esta opção pode facilitar o aproveitamento dos recursos naturais da exploração por parte do efetivo, resulta em lotes de vitelos mais homogêneos que podem beneficiar a sua comercialização (se houver escoamento adequado), concentrando ainda as operações que exigem mais mão de obra, como o desmame e a vigilância dos partos. Uma época de cobrição definida permite também um melhor ajuste do maneio nutricional de acordo com a fase produtiva das vacas e o planeamento das intervenções sanitárias necessárias por parte do médico veterinário.



Relativamente a uma época reprodutiva o objetivo é ter as vacas gestantes o mais cedo possível fecundadas pelos touros que possuem o maior valor genético e, por questões económicas, obter estes resultados com o menor número de touros (Selk, 2010).

Para estabelecer a proporção de machos:fêmeas é necessário considerar vários fatores, existindo diferenças entre explorações. A distribuição das fêmeas para cobrição varia com o tipo de terreno, disponibilidade da água, área disponível e com as características da pastagem. No caso do touro devem ser considerados a idade, a condição corporal, a libido, a fertilidade, a capacidade de monta e o comportamento. Existem ainda aspetos de manejo, tais como a duração da época da cobrição e a existência de doenças reprodutivas, que influenciam o número de machos necessários (Selk, 2010).

De uma forma simples, recomenda-se que os touros jovens sejam colocados com o número de fêmeas igual à sua idade em meses, por exemplo, um touro de 15 meses com 15 fêmeas (Selk, 2010). Os touros adultos (3-7 anos), que são aprovados no exame andrológico, e possuem libido e capacidade de monta adequadas, podem ser colocados com 35-60 vacas (Hansen, 2006).

A libido refere-se à vontade de acasalar e influencia de forma positiva a percentagem de fêmeas gestantes, no entanto, não tem relação com a qualidade de sémen, circunferência escrotal ou capacidade de monta (Perry *et al.*, 2008).

Outra questão importante no manejo dos touros é o comportamento reprodutivo, influenciado pela socialização e dominância entre eles. Nos grupos de touros com idades diferentes pode aumentar o número de lesões nos touros jovens por competirem pelas fêmeas e pelo alimento. Sempre que possível, devem agrupar-se os touros por idade, alguns meses antes da época reprodutiva, para estabelecerem a hierarquia ainda no período da pré-cobrição (Fanning *et al.*, 2007). O agrupamento de vários touros na mesma vacada, no entanto, não é desejável principalmente porque não contribui para o aumento da taxa de fertilidade (Selk, 2010). O ideal seria ter grupos de vacas com dimensão adequada para um, eventualmente dois touros, embora isto seja impraticável em muitas explorações.

### 3.2.2 Maneio geral dos touros

No manejo geral dos touros podemos incluir o manejo sanitário e nutricional. Apresentam-se aqui os aspetos mais importantes a considerar quanto ao manejo sanitário. Quanto à avaliação do manejo nutricional foca-se a atenção na avaliação da condição corporal.

Normalmente fazem parte do plano geral de saúde do efetivo as vacinações contra as várias espécies de *Clostridium* e a monitorização e controlo dos níveis de ecto e endoparasitas.

Deve ser feita a pesquisa de agentes infecciosos com repercussão na reprodução se existir suspeita clínica da presença dos mesmos, como são os casos em que há aborto ou redução das taxas de fertilidade. Os principais exames nos touros incluem a avaliação serológica de brucelose, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR – *Infectious Bovine Rhinotracheitis*), diarreia viral bovina (BVD – *Bovine Viral Diarrhoea*) e leptospirose. Os agentes de transmissão venérea, como *Tritrichomonas fetus* e *Campylobacter fetus* podem ser pesquisados no material recolhido através de lavagem prepucial com meio apropriado (Robalo Silva e Lopes da Costa, 2010).

Nos animais novos – e principalmente nos touros –, deve ser feita esta pesquisa de agentes infecciosos para evitar a introdução de doenças e problemas reprodutivos na exploração (Hansen, 2006).

Relativamente ao manejo nutricional, a pontuação da condição corporal (PCC) dos animais permite uma rápida avaliação da gordura e reservas energéticas relativas dos animais e pode ser observada ou palpada, independentemente da raça. A PCC serve como indicador do estado nutricional constituindo uma ferramenta de execução mais fácil e fiável que a pesagem dos animais. A escala mais utilizada é de 1 a 9, onde 1 corresponde a uma condição muito magra, e 9 significa obesidade (Eversole *et al.*, 2009).

Nas vacas a PCC desejável é de 5-7; abaixo disto são prejudicados a taxa de concepção, a duração de anestro pós-parto, o intervalo entre partos e a produção de leite; com uma PCC mais elevada podem existir afeções ao nível da ciclicidade ovárica e concepção, sendo os custos de manutenção maiores (Eversole *et al.*, 2009).

O manejo nutricional dos touros num ano pode ser dividido normalmente em três períodos: o período antes da época da cobrição, a época de cobrição e a época da recuperação ou pós-cobrição (Selk, 2010).

O período antes da época reprodutiva é uma fase para melhorar a PCC dos touros, de forma a adquirir reservas corporais que permitam alguma diminuição de peso, que normalmente ocorre durante a época de reprodução (Hansen, 2006). A duração mínima deste período tem a ver com a duração de espermatogénese, que no touro é de aproximadamente 61 dias (Chenoweth e Kastelic, 2007), proporcionando, portanto, um período para melhorar a qualidade do sémen.

Um dos pontos críticos do desenvolvimento e manutenção dos touros é o exercício. Em sistemas extensivos os machos percorrem vários quilómetros por dia e mantêm um elevado nível de atividade física, pelo que devem proporcionar-se áreas amplas aos animais (Selk, 2010).

Durante a época de cobrição o manejo nutricional dos touros é normalmente idêntico ao das vacas, enquanto na época seguinte a dieta depende da idade do animal e da perda de peso que ocorreu durante a época de cobrição (Selk, 2010; Hansen, 2006). Os vários autores recomendam 8-10% de proteína bruta na dieta para manutenção da PCC, e no mínimo 10% para ganho de peso nos touros mais velhos (Hansen, 2006; Gadberry, 2002). Nos jovens a proteína bruta na dieta deve chegar aos 10-12% (Selk, 2010; Hansen, 2006; Gadberry, 2002).

Para a produção ótima de sémen aconselha-se a suplementação de vitaminas e minerais quando estes não estão presentes em quantidades suficientes nos alimentos disponíveis. Selk (2010) refere a importância da vitamina A, que pode ser fornecida pelas forragens verdes, e do fósforo.

### **3.2.3. Desenvolvimento dos machos jovens**

Assegurar o desenvolvimento adequado dos machos jovens tem importância particular nas explorações que criam reprodutores, que depois são adquiridos pelas explorações produtoras de carne. No entanto, alguns aspetos devem ser considerados também pelas explorações que pretendem ter um aproveitamento adequado dos machos que possuem. O desenvolvimento e a seleção dos touros jovens devem maximizar a produtividade e a longevidade dos mesmos, aumentando assim a sua vida útil. Existe ainda interesse

económico na diminuição da idade à puberdade mantendo características estruturais corretas, permitindo a colocação do novilho em reprodução mais cedo (Engelken, 2008).

O desenvolvimento dos machos jovens pode ser dividido em duas fases:

- fase até ao desmame
- fase de recria.

Na fase até ao desmame (6-7 meses de idade) a atenção do produtor deve-se concentrar na mãe do vitelo, permitindo um crescimento adequado do vitelo. A suplementação do vitelo pode iniciar-se antes do desmame no caso do aleitamento materno se mostrar insuficiente.

O programa profilático para os futuros reprodutores deve-se iniciar ainda na fase de aleitamento incluindo a prevenção de doenças respiratórias e as provocadas por *Clostridium* spp., realizando as desparasitações externas e internas de acordo com o nível de parasitismo do animal e da exploração. Recomenda-se iniciar a vacinação pelo menos três semanas antes do desmame (Engelken, 2008).

Na altura do desmame deve ser avaliada a estrutura física do vitelo em estação e durante a locomoção, bem como a ausência de lesões oculares ou outros defeitos físicos. Os testículos devem estar descidos e moverem-se livremente no escroto (a descida dos testículos ocorre ainda durante a vida fetal) (Engelken, 2008; Parkinson, 2001).

Na fase da recria o manejo nutricional deve ser equilibrado, permitindo ganhos médios diários moderados (aproximadamente 1,25 kg), tratando-se de um futuro reprodutor (Selk, 2010). As dietas devem ter níveis moderados de energia (Selk, 2010) e 11-14% de proteína bruta para animais de 250-450 kg (Gadberry, 2002). As dietas com níveis muito baixos de energia atrasam a puberdade, levam à diminuição da produção de espermatozóides e resultam em menores reservas espermáticas no epidídimo. Entretanto dietas excessivamente energéticas podem causar acidose e laminite crónica com repercussão sobre a qualidade do sémen (Engelken, 2008).

Muitos animais jovens são alimentados com dietas que incluem elevados níveis de concentrado por estarem sujeitos a testes de *performance* (Fanning *et al.*, 2007). Estes novilhos podem ter fertilidade e líbido normais, mas devem ter um período de

adaptação após os testes, de forma a voltarem gradualmente a uma condição corporal moderada e condição física adequada (Selk, 2010).

Como nem todos os machos escolhidos na altura do desmame serão aprovados como reprodutores, a medição da circunferência escrotal nos vitelos desmamados pode ser uma ferramenta valiosa na seleção. Engelken (2008) refere que a circunferência escrotal de vitelos ajustada para os 205 dias de idade e para a raça deve atingir aproximadamente 20-23 cm para possivelmente atingir aproximadamente 32 cm com mais de um ano de idade - circunferência escrotal necessária para passar no exame andrológico. Esta medição pode diminuir os custos com o programa de desenvolvimento, permitindo abater mais cedo os machos que não irão satisfazer os critérios do exame andrológico (Engelken, 2008).

A circunferência escrotal (CE) pode fazer parte dos critérios de seleção, tratando-se de um dado facilmente mensurável, que está ligada diretamente a várias medidas de fertilidade nos touros, com uma heritabilidade aproximada de 0,5 (entre 0,36-0,68). A percentagem dos espermatozóides normais e móveis, o volume e concentração espermática, o *output* total de espermatozóides e reservas espermáticas epididimárias totais correlacionam-se todos positivamente com a circunferência escrotal (Engelken, 2008). A seleção para uma maior circunferência escrotal nos touros de carne leva à diminuição da idade da puberdade das filhas, aumentando a produtividade das mesmas (Chenoweth e Kastelic, 2007).

### **3.2.4 Utilização de touros jovens**

Kasari *et al.* (1996), citados por Hopkins (2005), referem que, para além de existir maior oferta dos novilhos com menos de dois anos de idade, estes são mais baratos avaliando o custo por vaca coberta ao longo da vida do touro. Contudo esta utilização “precoce” é condicionada pela idade à puberdade do animal.

O funcionamento dos órgãos reprodutivos masculinos é regulado pelo sistema endócrino através do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (incluindo sistemas de *feedback* para a regulação) que, por sua vez, está sob controlo do sistema nervoso. A secreção hipotalâmica de GnRH (*gonadotropin-releasing hormone*) estimula a síntese das gonadotrofinas LH (*luteinizing hormone*) e FSH (*follicle-stimulating hormone*) pela hipófise anterior. As células de *Leydig* no tecido intersticial testicular produzem

testosterona em resposta à LH, e as células de *Sertoli* são responsáveis pela espermatogênese sob o efeito da testosterona e FSH. A testosterona ainda é necessária para o desenvolvimento das glândulas acessórias, para a função epididimária, para o desenvolvimento de características sexuais secundárias e comportamento sexual (Chenoweth e Kastelic, 2007).

Nos touros pré-púberes ocorre normalmente um aumento precoce dos níveis de gonadotrofinas às 10-20 semanas de idade (Chenoweth e Kastelic, 2007), verificando-se um aumento progressivo a partir dos 6-7 meses de idade (nas raças de *Bos taurus*) das concentrações séricas de LH e testosterona, e crescimento rápido dos testículos até aos 13 meses de idade pelo menos (Chenoweth e Kastelic, 2007; Lunstra *et al.*, 1978).

Considera-se o início da puberdade quando o primeiro ejaculado contém o mínimo de  $50 \times 10^6$  espermatozóides/mL, possuindo pelo menos 10% motilidade progressiva. A puberdade nos touros das raças de *Bos taurus* ocorre entre os 8 e 12 meses de idade, dependendo da raça e do peso, sendo influenciado pelo manejo nutricional (Lunstra *et al.*, 1978). As raças de *Bos indicus* atingem a puberdade mais tarde (Chenoweth e Kastelic, 2007).

Segundo Lunstra *et al.* (1978) a medição da circunferência escrotal permite prever melhor o estabelecimento da puberdade do que a idade ou o peso, independentemente da raça, atingindo a circunferência escrotal cerca de 28 cm nessa altura.

O novilho deve iniciar a sua atividade reprodutiva pelo menos 3-4 meses após o estabelecimento da puberdade (Selk, 2010), já que neste período se verifica um aumento da concentração espermática e da percentagem de espermatozóides normais (Chenoweth e Kastelic, 2007). Arteaga *et al.* (2001) referem que aos 11 meses de idade apenas 20% dos novilhos apresentam maturidade suficiente nos espermogramas, aumentando essa percentagem para 61% aos 15 meses de idade.

### **3.3. Exame andrológico**

Para avaliar a fertilidade de um touro seria necessário colocá-lo com vacas e determinar posteriormente a taxa das fêmeas que ficaram gestantes (Higdon III *et al.*, 2000). A fertilidade, no entanto, depende também de vários outros fatores por parte do macho e da fêmea e é influenciada ainda pela nutrição, ambiente e estado sanitário (Chenoweth,

2002). O objetivo do exame andrológico é prever a capacidade reprodutiva potencial e fertilidade do touro através de medições standardizadas do desenvolvimento testicular e de certas características seminais, assim como da interpretação de certos parâmetros de seleção que se relacionam com a vontade e capacidade reprodutiva (LeaMaster e DuPont, 2007; Higdon III *et al.*, 2000). Trata-se de uma avaliação relativamente rápida e económica dos touros antes de utilização ou venda e, aqueles que passam no exame andrológico, geram aproximadamente 10% mais vitelos numa época de cobrição (Hopkins, 2005). O objetivo do exame é identificar machos satisfatórios. Como os limites estabelecidos para a circunferência escrotal e qualidade do sémen são limites inferiores mínimos, o sistema permite uma melhor identificação de animais insatisfatórios do que superiores (Chenoweth, 2002).

A realização do exame dos touros deve ser feita 30-60 dias antes da época reprodutiva, permitindo a repetição do exame, a eliminação por infertilidade ou a substituição de touros com resultados questionáveis ou insatisfatórios (Fanning *et al.*, 2001).

O exame deve incluir (LeaMaster e DuPont, 2007):

- Exame físico
- Exame do trato reprodutivo
- Avaliação do sémen

Para um exame completo é importante a avaliação da libido, no entanto, não faz parte do exame andrológico por rotina (LeaMaster e DuPont, 2007). A testagem da libido pode ser feita colocando uma fêmea em cio num estábulo durante dez minutos com o touro. A reação do touro pode ir desde o desinteresse sexual pela vaca, até à cobrição. De forma mais prática pode ser avaliada a libido por observação do comportamento do touro após introdução numa vacada (Perry *et al.*, 2008; Barth, 2007).

### **3.3.1. Exame físico**

O objetivo do exame é detetar afeções que possam interferir com o desejo e capacidade do touro para se reproduzir (LeaMaster e DuPont, 2007). O exame incide por isso sobre as funções orgânicas que têm relação com a função reprodutiva, como o aparelho locomotor, a visão e a existência de qualquer doença ou condição que possa afetar a *performance* reprodutiva (Robalo Silva e Lopes da Costa, 2010).

A pontuação da condição corporal (PCC) permite avaliar as reservas energéticas do touro. Hansen (2006) refere que os touros devem ter uma PCC superior a 5 numa escala de 9 (1=magro; 9=obeso) quando introduzidos na vacada, uma vez que irão perder peso ao longo da época reprodutiva. Como uma perda de peso dramática leva à diminuição da produção de espermatozóides com redução da qualidade espermática, esta deve ser monitorizada (Hansen, 2006).

A importância do exame do aparelho locomotor deriva da necessidade dos touros percorrerem uma longa distância para detetar e acasalar com as fêmeas em cio sendo, por isso, essencial a boa conformação dos membros. Para além destas afeições poderem interferir com o ato da cobrição, o maior problema poderá ser a transmissão à descendência, no caso de se tratar de problemas hereditários. Para evitar problemas evidentes deve-se observar o touro a andar (Barth, 2007).

Os problemas de visão podem reduzir a aptidão reprodutiva por interferirem com a localização das fêmeas em cio, já que esta ocorre primeiro por observação visual em vez de sinais olfatórios (Robalo Silva e Lopes da Costa, 2010; Hansen, 2006).

### **3.3.2. Exame do aparelho genital**

Para um exame completo procede-se à palpação transretal dos órgãos reprodutivos internos. O exame externo inclui a palpação dos cordões espermáticos, testículos, escroto e epidídimos. O pénis deve ser inspecionado. A circunferência escrotal pode ser medida nesta altura ou então após a colheita de sémen (Barth, 2007).

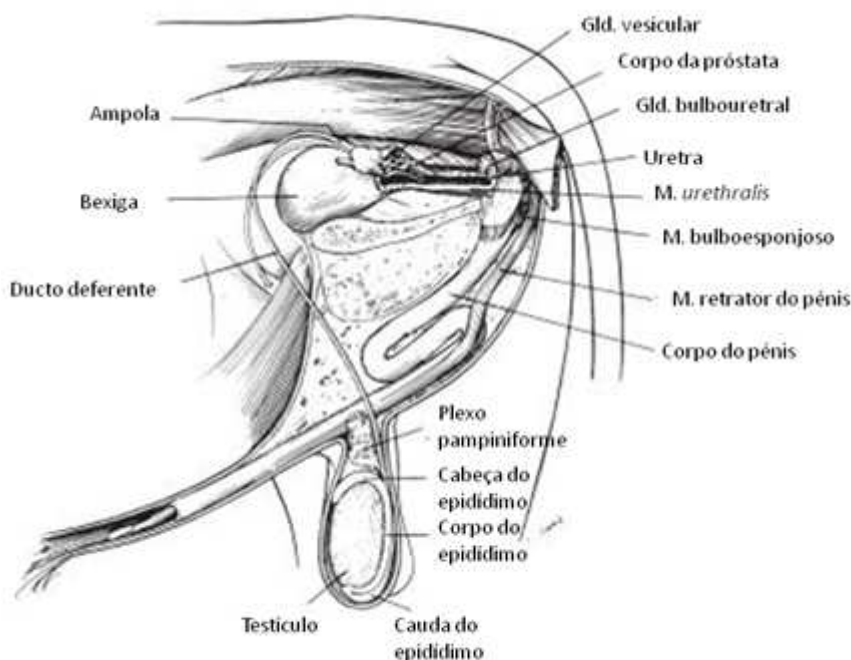
#### **3.3.2.1. Exame dos órgãos sexuais anexos**

Aquando do exame interno avaliam-se as glândulas sexuais acessórias e os anéis inguinais através de palpação transretal. As glândulas sexuais acessórias no touro incluem a próstata, as glândulas bulbouretrais e vesiculares (Figura 18). Estas últimas são as mais facilmente palpáveis (verifica-se um aumento normal do tamanho com a idade), devem ser de tamanho uniforme, lobuladas e móveis (Barth, 2007).

Se a estimulação das glândulas sexuais acessórias desencadear a exteriorização do pénis, este pode ser observado nesta altura, para verificar a ausência de fibropapiloma peniano, frénulum persistente, desvio do pénis ou outra alteração (Hopkins, 2007). Estas



afeções podem interferir com a intromissão do pênis, contribuindo para lesões penianas (Parkinson, 2001).



**Figura 18: Órgãos reprodutivos do touro** (adaptado de Chenoweth e Kastelic, 2007)

O achado mais comum durante a palpação transretal é o aumento, firmeza excessiva e a perda de lobulação das glândulas vesiculares. A adenite vesicular ocorre em 2-4 % de touros de idade entre 1 e 2 anos (Barth, 2007).

Os anéis inguinais aumentados significam que o touro em questão será predisposto a desenvolver hérnia escrotal durante a cobrição, sendo esta uma afeção rara (Barth, 2007).

#### **3.3.2.2. Exame externo**

O exame externo deve incluir o exame dos testículos e dos epidídimos através de inspeção e palpação, bem como a medição da circunferência escrotal. Nesta altura convém ainda observar se existem sinais de traumatismos recentes que possam afetar a capacidade reprodutiva do macho.

### 3.3.2.2.1. Exame testicular

Aquando da palpação devem ser avaliados a temperatura, o tamanho, a textura e a uniformidade dos testículos e epidídimos. Os testículos devem mover-se livremente no escroto (Parkinson, 2001). A palpação dos testículos visa detetar possíveis abscessos, tumores, hematoceles, orquite ou calcificação (Barth, 2007).

As afeções testiculares mais comuns de acordo com Carroll *et al.* (1963), citados por Gosey (1983), são o tamanho reduzido que ocorrem em 8,8% dos touros, seguido de consistência mole em 7,4% dos casos. A fibrose ou criptorquidismo são achados raros.

O tamanho reduzido pode ser devido a hipoplasia ou atrofia, em consequência de degeneração testicular. A hipoplasia testicular, por definição, significa testículos mais pequenos que os normais para a idade. Trata-se de um problema congénito, que pode afetar um ou os dois testículos (Hopkins, 2007).

A degeneração testicular, por sua vez, é uma condição adquirida, envolve alterações patológicas que podem afetar apenas um ou ambos os testículos, e as alterações podem ser temporárias ou permanentes (Hopkins, 2007). À palpação sente-se normalmente uma consistência mole (Barth, 2007). Esta alteração pode ocorrer em consequência do aumento da temperatura intratesticular (por causas exógenas ou endógenas), distúrbio endócrino e infeção. As alterações da qualidade do sémen podem começar a manifestar-se até 8 semanas após a afeção testicular (Brito *et al.*, 2003; Parkinson, 2001), de acordo com o estado do desenvolvimento das células germinais que sofrem alteração (Brito *et al.*, 2003). A recuperação pode levar várias semanas ou meses nos casos menos graves, enquanto nos casos mais graves ocorre perda permanente do epitélio seminífero, com atrofia posterior do testículo (Parkinson, 2001).

Para o diagnóstico de anomalias testiculares pode ser utilizado, em alguns casos, a ultrassonografia ou a termografia por infravermelhos. A utilização de tonómetro para a avaliação da consistência não é muito frequente (embora forneça dados mais objetivos que a palpação) já que a correlação com a qualidade do sémen não é muito elevada (Barth, 2007).

A biopsia testicular seria útil para o prognóstico de afeções testiculares, no entanto, nos ruminantes a sua realização é desaconselhada, devido ao risco elevado de hemorragia intratesticular ou entre as túnica vaginalis (Parkinson, 2001).

A cabeça do epidídimo é normalmente palpável e a cauda do epidídimo é proeminente. O aumento do volume destas estruturas pode estar relacionado com inflamação e granulomas espermáticos que impedem o transporte dos espermatozóides. Durante a palpação são avaliados os cordões testiculares desde a parede do abdómen até ao topo dos testículos para detetar a presença de abscessos, varicocelo e hérnia escrotal (Parkinson, 2001).

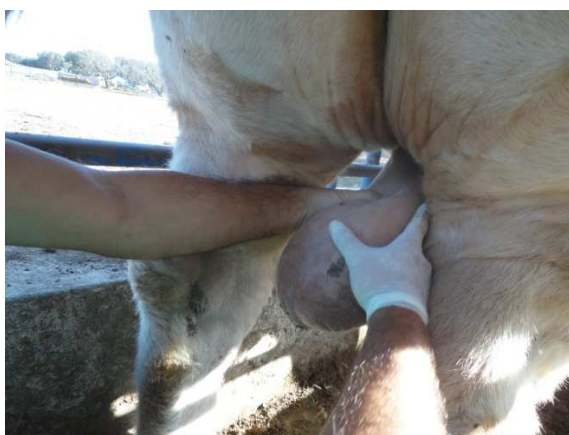
O epidídimo é responsável pela maturação e armazenamento (cauda do epidídimo) dos espermatozóides levando a passagem destes pelo epidídimo 10 a 14 dias no touro, dependendo do período de armazenamento (Parkinson, 2001). No epidídimo os espermatozóides adquirem a capacidade de motilidade progressiva e a capacidade de fertilização. O *stress* térmico e a alteração do nível de androgénios afeta de forma adversa a função epididimária (Chenoweth e Kastelic, 2007; Parkinson, 2001).

Devem ser examinados ainda a espessura da parede escrotal, a quantidade de gordura presente à volta do cordão testicular e a presença de lesões na parede ou no interior do escroto (Barth, 2007). Estas alterações podem levar ao aumento da temperatura escrotal e testicular que, em condições normais, deve estar 2-6°C inferior à temperatura corporal do touro (Chenoweth e Kastelic, 2007), afetando a termorregulação testicular e a qualidade do sémen (Barth, 2007; Kastelic *et al.*, 1996).

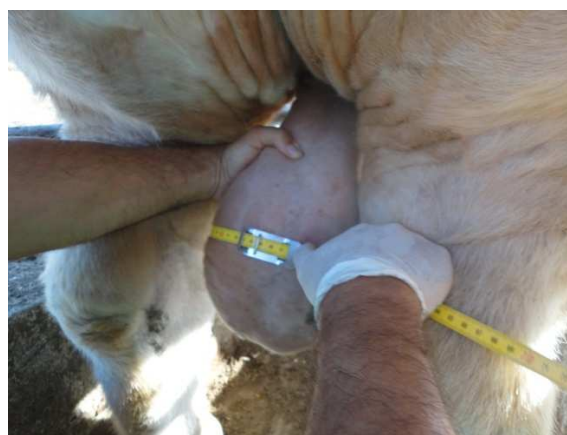
#### **3.3.2.2.2. Circunferência escrotal**

A circunferência escrotal possui correlação elevada com o peso dos dois testículos que, por sua vez, é diretamente e altamente correlacionado com a produção diária de espermatozóides (Barth, 2007). Trata-se de uma medição com elevada repetibilidade, e largamente aceite, para estimar a capacidade de produção de espermatozóides (Chenoweth e Kastelic, 2007).

A medição da circunferência escrotal é realizada após a palpação dos testículos (Figura 19) e epidídimos, assegurando que estes estão normais. A técnica da medição (Figura 20) consiste no posicionamento dos testículos na parte mais ventral do escroto, colocando os dedos proximalmente no escroto, de modo que fiquem um ao lado do outro, garantindo a eliminação das rugosidades da pele que resulta em valores mais elevados. A circunferência mede-se utilizando uma fita métrica flexível no diâmetro maior dos testículos na posição acima descrita (Barth, 2007).



**Figura 19: Palpação testicular num touro**  
(fotografia original)



**Figura 20: Medição da circunferência escrotal**  
(fotografia original)

### 3.3.3. Colheita de sémen

A colheita de sémen pode ser efetuada através de vários métodos sendo essencial a obtenção de uma amostra já que a análise de sémen influencia significativamente a classificação final dos touros no exame andrológico, principalmente, quando estes possuem circunferência escrotal marginal (Bruner *et al.*, 1995). Para a escolha do método devem ser consideradas as questões de bem-estar animal e de eficiência (Palmer, 2005).

Segundo Barth (2007) as principais técnicas são:

- Eletroejaculação (EEJ)
- Colheita por vagina artificial
- Massagem das glândulas sexuais acessórias
- Aspiração a partir da vagina de uma vaca recentemente coberta.

A técnica mais utilizada em bovinos de carne é a eletroejaculação, sendo um método facilmente executável nas instalações existentes na exploração, devendo o animal ser adequadamente contido numa manga. Após o exame transretal, efetua-se uma massagem de 10 a 60 segundos (s) das glândulas sexuais acessórias com o objetivo de desencadear a excitação sexual do touro e o relaxamento do esfíncter anal para facilitar a inserção do eletroejaculador no reto. Os modelos recentes possuem três elétrodos

orientados ventralmente para evitar a estimulação desnecessária dos nervos dorsais ao reto. Os estímulos elétricos são cíclicos com cerca de 20-30 ciclos/s com voltagem crescente de 1-2 s de duração seguido de pausas de 0,5-1 s. Os efeitos da estimulação elétrica podem incluir ligeira contração dos músculos do membro posterior. A estimulação origina a protrusão do pénis, ereção e finalmente a ejaculação. Uma desvantagem importante da EEJ é ser uma técnica considerada dolorosa para o animal (Palmer, 2005).

Para avaliar o bem-estar animal durante o exame andrológico Palmer (2005) refere, que o nível da progesterona sérica e a vocalização são úteis na avaliação da dor associada à EEJ. A utilização de anestésicos ou sedativos para a redução da dor associada a EEJ em touros não demonstraram eficácia suficiente para justificar a administração dos mesmos (Palmer, 2005).

A colheita por vagina artificial utiliza-se normalmente só nos centros de testagem e reprodução, já que os animais necessitam de treino, sendo este o método que permite obter melhor qualidade de sémen. A colheita muitas vezes não é bem sucedida nos touros não treinados, mesmo na presença de uma vaca em cio (Barth, 2007).

Na massagem transretal, fazem-se movimentos no sentido crânio-caudal para estimular as ampolas deferentes e a próstata, tendo menor importância a estimulação das glândulas vesiculares. Para esta técnica são melhores candidatos os touros dóceis (Barth, 2007).

Demonstrou-se que nas amostras obtidas por massagem transretal a percentagem dos espermatozóides vivos e a motilidade foram significativamente mais baixas do que nas amostras por EEJ. A ausência da protrusão do pénis e a exposição consequente do sémen ao ambiente hostil do prepúcio nas colheitas por massagem transretal foram apontados como fatores possíveis para a qualidade inferior das amostras. Este método pode diminuir a duração da estimulação na EEJ (Palmer, 2005).

A massagem transretal ou a utilização de vaginas artificiais como métodos alternativos não são tão eficientes como a EEJ para a obtenção de uma amostra de sémen de elevada qualidade (Palmer, 2005).

A amostra pode ser obtida ainda por aspiração da vagina de uma vaca recentemente coberta (Barth, 2007; Parkinson, 2001), neste caso é aconselhado a lavagem vaginal prévia com solução de cloreto de sódio 0,9% para remover o muco (Barth, 2007).

#### **3.3.4. Avaliação do sémen**

O sémen avalia-se através das características macroscópicas como o volume, a cor, o cheiro, a densidade e a consistência, e características microscópicas como a concentração, a motilidade e morfologia espermática (Barth, 2007).

##### **3.3.4.1. Características macroscópicas**

O volume normal do ejaculado é de 2-5 mL no touro (Parkinson, 2001) mas este pode ser superior nas amostras obtidas por EEJ, devido à maior contribuição das glândulas sexuais acessórias (Louge e Crawshaw, 2004).

A cor normal esbranquiçada e o cheiro podem sofrer alterações quando ocorre contaminação com urina, sangue ou pus (Parkinson, 2001). A densidade ou consistência permite estimar a concentração espermática em condições de campo, em que não se avalie a concentração, podendo ser classificada como cremosa, leitosa e aquosa (Barth, 2007; Louge e Crawshaw, 2004). As amostras aquosas ocorrem normalmente em casos de oligospermia (Parkinson, 2001).

Com colheitas regulares, recorrendo a vagina artificial, o volume e densidade do ejaculado providenciam informação importante sobre a capacidade de produção de espermatozóides do touro. Com EEJ estas características são menos fiáveis quanto à avaliação da qualidade do sémen (Barth, 2007).

##### **3.3.4.2. Características microscópicas**

As principais características microscópicas a avaliar são a concentração, a motilidade massal e individual (percentagem de espermatozóides com movimentos progressivos), a morfologia espermática e a integridade da membrana citoplasmática, com o objetivo de obter informação sobre a qualidade do ejaculado (Barth, 2007; Parkinson, 2001).

A motilidade e morfologia dos espermatozóides são as características seminais que apresentam correlação mais elevada com a fertilidade e são os parâmetros que mais facilmente se repetem. As características como o volume, a concentração e a

percentagem de espermatozóides vivos apresentam baixa correlação com a fertilidade (LeaMaster e DuPont, 2007).

A motilidade pode ser afetada por contaminação ou por técnicas de manuseamento impróprias. Nas técnicas de manuseamento o aspeto mais importante é a temperatura adequada dos utensílios utilizados e a ausência de resíduos de detergentes (Parkinson, 2001).

O sémen é constituído pelos espermatozóides suspensos no plasma seminal (Chenoweth e Kastelic, 2007), que no caso do touro provém principalmente das glândulas vesiculares e da próstata (Barth, 2007). Como os líquidos seminais, mantêm apenas durante pouco tempo a viabilidade dos espermatozóides, o exame das amostras deve ser realizado logo após a colheita (Barth, 2007).

#### **3.3.4.2.1. Concentração**

A concentração normal do ejaculado do touro é de  $600-2800 \times 10^6$  espermatozóides/mL. Esta pode ser avaliada através de um hemocítmetro, após diluição numa proporção de 1:100, no caso do touro, com solução de cloreto de sódio de 0,9% com 0,02% de formalina. A avaliação por espectrofotometria utiliza-se normalmente nos centros de inseminação artificial (IA), onde é necessário processar uma grande quantidade de amostras (Parkinson, 2001).

#### **3.3.4.2.2. Motilidade massal e individual**

A motilidade massal avalia-se colocando uma gota de sémen sem diluição numa lâmina previamente aquecida, sem cobrir, observando ao microscópio na ampliação de 40x ou 100x, e pontuando a motilidade de 0 a 5 (Tabela 7), correspondendo 5 a ondas rápidas, vigorosas e escuras (Barth, 2007).

**Tabela 7: Pontuação da motilidade massal** (adaptado de Louge e Crawshaw, 2004)

Escala	Descrição dos movimentos
5	Ondas rápidas, vigorosas
4	Movimento de onda bem observável
3	Ondas lentas
2	Amostra com movimentos ativos, mas sem onda
1	Alguns espermatozóides móveis
0	Sem movimento

A motilidade massal depende de três fatores: concentração, percentagem de espermatozóides com motilidade progressiva e velocidade de progressão dos espermatozóides e, por isso, o resultado observado é influenciado pelos três. Mesmo com elevada concentração e percentagem de espermatozóides com motilidade progressiva, a velocidade de progressão pode ser afetada pela temperatura ambiente baixa ou pela existência de um intervalo prolongado entre a colheita e observação (Barth, 2007).

A motilidade individual avalia-se colocando uma gota de sémen, na maioria dos casos diluída, numa lâmina previamente aquecida, observando ao microscópio sob uma lamela com baixa ampliação. Para a diluição pode ser utilizada solução de cloreto de sódio a 0,9% previamente aquecida ou solução de citrato de sódio a 2,9%. Estima-se a percentagem de espermatozóides que apresentam movimentos progressivos (Parkinson, 2001).

A análise espermática por computador denomina-se CASA (*computer-assisted sperm analysis*), e permite uma avaliação mais profunda dos vários parâmetros de motilidade, sendo os principais movimentos o movimento progressivo, a amplitude linear do movimento da cabeça, a velocidade do movimento e o movimento da cauda (Parkinson, 2001; Farrell *et al.*, 1998). Farrell *et al.* (1998) indicam uma relação forte entre estas variáveis ( $r^2=0,68$  a  $0,98$  com a inclusão de 2 a 5 variáveis) e a fertilidade.

#### **3.3.4.2.3. Morfologia espermática e integridade da membrana citoplasmática**

Os espermatozóides são translúcidos, sendo por isso necessária a coloração do espermatozóide ou a criação de um fundo escuro para uma visualização adequada através de microscopia. Na chamada “coloração vital” utiliza-se o corante de eosina-nigrosina. A eosina penetra as membranas celulares danificadas, corando os



espermatozóides não-viáveis e danificados de rosa, enquanto os viáveis repelem o corante, permanecendo descorados; enquanto a nigrosina permite criar um fundo escuro. Com manipulação correta das amostras a percentagem de espermatozóides viáveis possui uma correlação elevada com a percentagem de espermatozóides com movimentos progressivos (Barth, 2007; Louge e Crawshaw, 2004).

Para a preparação dos esfregaços deve-se misturar o sémen e o corante previamente aquecido num tubo coletor pequeno, numa proporção de 1:10, incubar durante um minuto (35-37 °C), e fazer o esfregaço numa lâmina previamente aquecida (Louge e Crawshaw, 2004).

O artefacto de choque hipotónico reconhece-se pelo dobramento da parte distal da cauda. Isto pode acontecer devido a utilização de formulações hipotónicas de eosina-nigrosina. Este efeito deve ser minimizado secando os esfregaços o mais rapidamente possível. No caso de choque hipotónico não deve aparecer nenhum material de gota citoplasmática na dobra. A motilidade observada sob uma lamela é útil para distinguir se existem defeitos de cauda causados por má função epididimária ou apenas artefactos (Barth, 2007).

A contagem diferencial de morfologia espermática deve ser feita nas objetivas de imersão a ampliações de 1000x a 1250x para detetar os defeitos existentes. Numa amostra individual com poucos defeitos é suficiente contar 100 espermatozóides, para uma contagem mais correta pode ser necessário contar 200 ou 300 espermatozóides (Barth, 2007).

A visualização dos defeitos de acrossoma muitas vezes é difícil nas preparações coradas, sendo melhor para estes a observação de preparações húmidas com microscópio de contraste-fase ou com contraste de interferência diferencial (Freneau *et al.*, 2010; Parkinson, 2001). Freneau *et al.* (2010) referem percentagens de espermatozóides normais semelhantes para os esfregaços corados de eosina-nigrosina e preparações húmidas, considerando a primeira adequada para a classificação dos touros no exame andrológico.

Num estudo recente (Menon *et al.*, 2011), que envolveu 1642 touros, 17% dos animais foram classificados como reprodutores insatisfatórios com base na morfologia espermática, realçando este resultado a importância desta avaliação.

#### **3.3.4.2.4. Classificação das anomalias espermáticas**

O conhecimento da estrutura do espermatozóide e do processo da espermatogénese são essenciais para a interpretação dos espermogramas. Como alguns defeitos são mais importantes que outros para a fertilidade, deve ser feita uma contagem diferencial, existindo vários sistemas de classificação para a morfologia espermática (Barth, 2007).

Um dos sistemas mais antigos é a classificação das anomalias de acordo com a região afetada no espermatozóide (cabeça, peça intermédia, cauda). As Figuras 21-28 mostram as formas anormais mais comuns. Os defeitos da cabeça incluem as alterações da forma da cabeça e do acrossoma, tendo a maioria destes defeitos origem nos testículos, devido a distúrbios de espermatogénese. Os defeitos da peça intermédia incluem a ligação frágil da cabeça e cauda, aparecendo cabeças destacadas, o espessamento da peça intermédia e a implantação abaxial da cauda. Os defeitos da cauda mais comuns são o dobramento e enrolamento; alguns destes defeitos afetam a peça intermédia e a cauda ao mesmo tempo, interferindo com a motilidade do espermatozóide. As gotas citoplasmáticas ou protoplasmáticas são removidas normalmente durante a maturação no epidídimo, ocorrendo a migração da gota citoplasmática da cabeça em direção à cauda. A presença das gotas citoplasmáticas pode indicar imaturidade dos espermatozóides, sobreutilização do macho e também defeito de espermição (Parkinson, 2001).

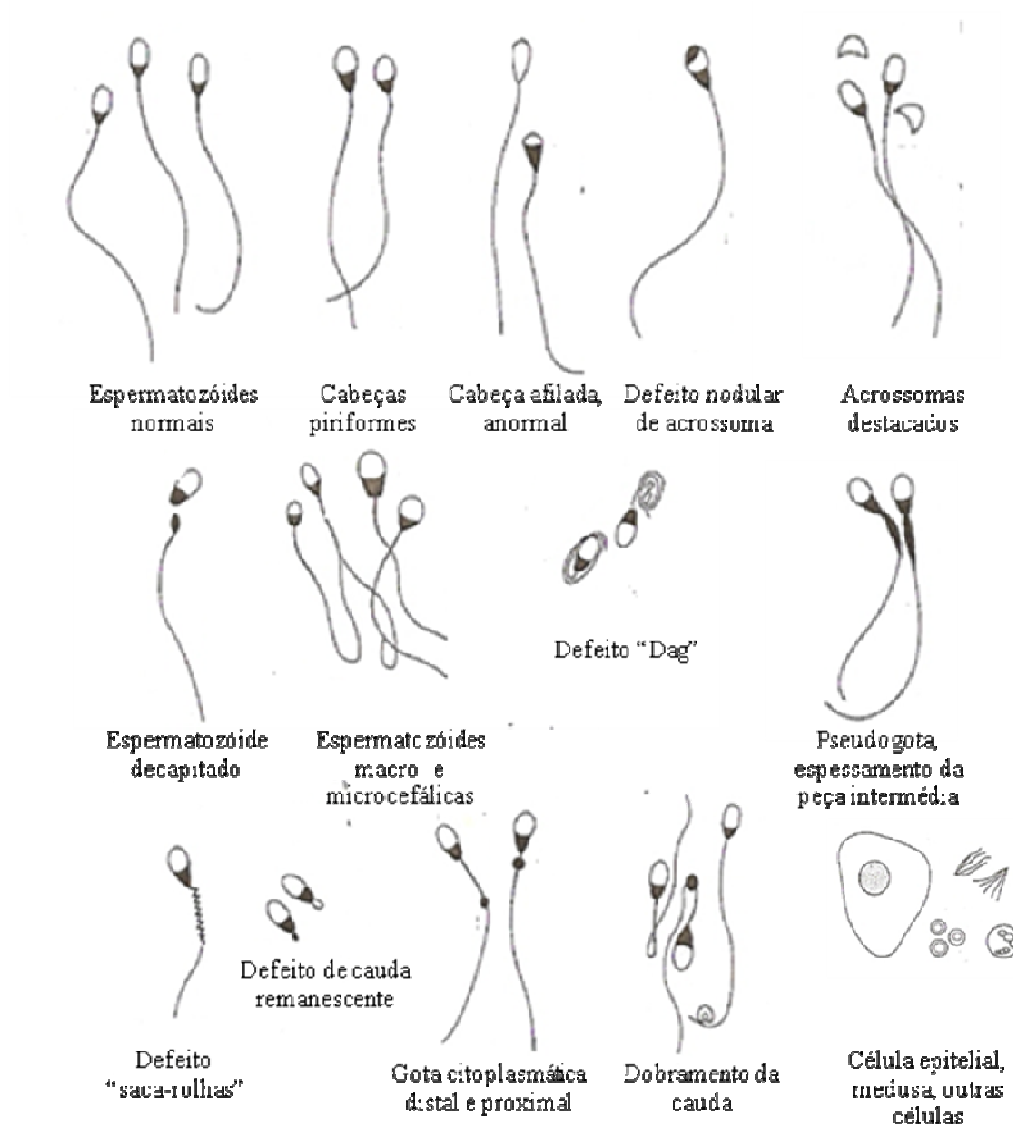
A classificação em defeitos primários e secundários constitui outro sistema aceite. Por definição um defeito primário é aquele que se origina nos testículos durante a espermatogénese. Um defeito secundário é aquele que se origina no epidídimo. É importante notar que a definição se baseia na origem e não na severidade do defeito. Ao mesmo tempo alguns defeitos podem ser primários ou secundários, como por exemplo a presença de gotas citoplasmáticas proximais. Noutros casos certas condições podem afetar tanto a função epididimária como a espermatogénese simultaneamente, causando defeitos primários e secundários (Barth, 2007).

Blom (1977), citado por Barth (2007), para melhorar o método de classificação anterior criou o sistema de defeitos maiores e menores, classificando em defeitos maiores aqueles que se associavam à infertilidade e defeitos menores aqueles que não se

associavam à infertilidade, segundo os conhecimentos da altura em que o sistema foi criado.

Os defeitos maiores incluem a maioria das anomalias da cabeça e peça intermédia, gotas citoplasmáticas proximais e anomalias de um único tipo presentes em percentagem elevada, enquanto os defeitos menores incluem, por exemplo, as cabeças destacadas, gotas citoplasmáticas distais e alguns defeitos da cauda (Menon *et al.*, 2011).

Mais recentemente com a análise das taxas de não-retorno na inseminação artificial e com os estudos de fertilização *in vitro* desenvolveram-se os conceitos de anomalias compensáveis e não-compensáveis (Barth, 2007). Sendo os defeitos compensáveis aqueles que interferem com o transporte e função dos espermatozóides (motilidade e morfologia), não conseguindo chegar ao oócito, nem fertilizar e desencadear o bloqueio à polispermia. Estes defeitos podem ser ultrapassados na IA com o aumento do número de espermatozóides. Os espermatozóides com defeitos não-compensáveis são capazes de alcançar e penetrar o oócito, mas a manutenção da fertilização e início da embriogénese estão comprometidos (Freneau, 2011; Nöthling e Irons, 2008).



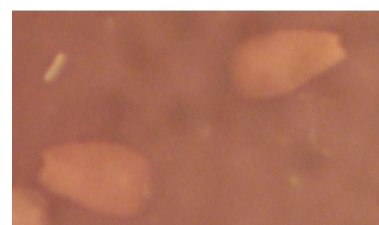
**Figura 21: Formas anormais comuns nos espermatozoides** (adaptado de Parkinson, 2001)



**Figura 22: Espermatozoide normal**  
(fotografia original)



**Figura 23: Cabeça piriforme**  
(fotografia original)



**Figura 24: Cabeças destacadas**  
(fotografia original)



**Figura 25: Gota citoplasmática proximal**  
(fotografia original)



**Figura 26: Teratóide**  
(fotografia original)



**Figura 27: Defeito 'Dag'**  
(fotografia original)



**Figura 28: Cauda enrolada**  
(fotografia original)

A percentagem de espermatozóides anormais, por um lado fornece informação em relação a capacidade reprodutiva do touro, por outro lado, tendo em conta a história e achados do exame físico, pode servir para estabelecer a causa ou o prognóstico para algumas afeções. A amostra de espermatozóides permite obter conhecimento quanto à saúde do epitélio dos túbulos seminíferos e dos epidídimos (Barth, 2007). No entanto a severidade das alterações iniciais da qualidade do sémen, possuem pouco valor no prognóstico no caso das afeções térmicas (Parkinson, 2001).

Os distúrbios da espermatogénese na maior parte dos casos estão relacionados com o calor ou com o *stress*. Outras causas menos frequentes podem ser genéticas, tóxicas e eventualmente deficiências nutricionais (Barth, 2007). O aumento da temperatura dos testículos pode ocorrer por causas endógenas, como febre, deposição excessiva de gordura no escroto, inflamação local do escroto, testículo ou epidídimo, hérnia escrotal e afeções da circulação testicular. A causa exógena mais frequente é a temperatura ambiente elevada (Parkinson, 2001). Brito *et al.* (2003) referem como consequência do aumento da temperatura escrotal a diminuição da concentração espermática e o *output* total de espermatozóides, com o aumento das formas anormais. As alterações mais importantes registadas por Brito *et al.* (2003) e Kastelic *et al.* (1996) foram o aumento dos defeitos de cabeça, a presença de gotas citoplasmáticas e alterações da peça intermédia. Os espermatozóides manifestaram-se mais sensíveis à afeção térmica no epidídimo e durante a formação do acrossoma (Brito *et al.*, 2003; Kastelic *et al.*, 1996).

O *stress* pode ter diversas origens (doença, lesão, dor, temperatura ambiente baixa, fome, transporte e alterações ambientais), afetando a função testicular através de um mecanismo endócrino. O aumento da produção de cortisol pela glândula adrenal em

consequência do *stress* leva à redução da secreção de LH pela hipófise anterior, resultando na diminuição da produção de testosterona pelas células de *Leydig* o que, por sua vez, afeta a espermatogénese, a função das glândulas sexuais acessórias e do epidídimo (Barth, 2007; Chenoweth e Kastelic, 2007).

### **3.4. Classificação dos exames andrológicos**

Os critérios da classificação e interpretação dos exames andrológicos têm sofrido alterações nos últimos 30 anos.

Existem várias associações que publicam diretrizes, linhas orientativas para a execução e padronização dos exames andrológicos, como a *Society for Theriogenology* dos EUA (SFT) e a *Western Canadian Association of Bovine Practitioners* (WC).

#### **3.4.1. Society for Theriogenology 1993 (SFT93)**

As diretrizes atualmente utilizadas ao nível internacional são as da SFT, de 1993, que vieram substituir as diretrizes de 1983 (SFT83) da mesma sociedade, incluindo os últimos progressos científicos (Spitzer *et al.*, 1998).

O exame físico recebeu uma ênfase maior, em relação a 1983, como parte integrante do exame andrológico. O sistema de pontuação anterior foi abandonado e começou a ser utilizado um sistema com recomendações mínimas para a circunferência escrotal, motilidade espermática e morfologia espermática, evitando assim a aprovação de touros que não atingem os mínimos estabelecidos (Spitzer *et al.*, 1998). As diretrizes de 1993 da SFT estabeleceram, para os touros serem classificados como reprodutores potenciais satisfatórios:

- A circunferência escrotal mínima por categorias de idade (Tabela 8)
- Mínimo 70% de espermatozóides normais na morfologia
- Motilidade progressiva mínima de 30% e/ou motilidade massal razoável (Tabela 9).

**Tabela 8: Circunferência escrotal mínima recomendada para touros** (adaptado de Spitzer *et al.*, 1998)

Idade (meses)	Circunferência escrotal (cm)
≤15 meses	30
>15 meses ≤18 meses	31
>18 meses ≤21 meses	32
>21 meses ≤24 meses	33
>24 meses	34

**Tabela 9: Motilidade massal e motilidade individual mínimas recomendadas para sémen de touros** (adaptado de Spitzer *et al.*, 1998)

Motilidade massal	Classificação	Individual
Ondas rápidas	Muito Bom	≥70%
Ondas lentas	Bom	50-69%
Oscilação generalizada	Razoável	30-49%
Oscilação esporádica	Fraco	<30%

O nível mínimo para a motilidade foi estabelecido atendendo às condições de colheita no campo. A categoria “reprodutor potencial questionável” foi substituída por “classificação adiada” nas situações que exigem uma testagem posterior para decisão adequada, evitando assim a conotação negativa associada à denominação anterior (Spitzer *et al.*, 1998).

Os mínimos foram determinados com base em muitos exames considerando diversas raças, condições de manejo e ambiente. Para garantir progresso genético serão necessários níveis mínimos mais elevados, no entanto, este trabalho cabe às associações das raças e aos produtores (Spitzer *et al.*, 1998).

### **3.4.2. Western Canadian Association of Bovine Practitioners 1993 (WC93)**

O sistema de classificação é semelhante ao sistema de 1993 da SFT mas os mínimos estabelecidos para a circunferência escrotal variam quer com a raça quer com a idade do touro. A motilidade espermática ainda tem que ser pelo menos de 60% ou bom e as classificações possíveis são “reprodutor potencial satisfatório”, “questionável ou insatisfatório” e ainda “decisão adiada” (Higdon III *et al.*, 2000).

Segundo Higdon III *et al.* (2000), num estudo que envolveu 2898 touros com idades entre 10 e 20 meses, aplicando os três sistemas de classificação referidos, a adoção do sistema WC93 resultou numa maior percentagem de touros com resultado insatisfatório devido a motilidade espermática inadequada e devido a combinação da motilidade e morfologia espermática inadequadas (Higdon III *et al.*, 2000). Segundo o mesmo estudo a aplicação das novas regras SFT93 resultou em maior percentagem de reprodutores potenciais insatisfatórios por morfologia espermática inadequada em relação ao sistema SFT83 (Higdon III *et al.*, 2000).

### **3.5. Exames complementares para a avaliação da fertilidade do touro**

Nos exames complementares pode ser incluída a verificação da presença de uma proteína chamada “antigénio associado à fertilidade” (*fertility associated antigen – FAA*), cuja presença tem importância na capacitação e fertilização. Esta proteína é produzida pelas glândulas sexuais acessórias e é libertada no líquido seminal durante a ejaculação e liga-se à membrana celular do espermatozóide após ejaculação. O FAA, uma vez activado, facilita a ligação do espermatozóide a componentes semelhantes à heparina no trato genital feminino. Esta ligação é necessária para iniciar a capacitação e fertilização posterior (Hansen, 2006).

Touros com qualidade de sémen semelhante podem originar taxas de fertilidade diferentes dependendo da presença do FAA. Hansen (2006) refere que os touros nos quais é possível detetar a presença de FAA associado a espermatozóides possuem taxas de gestação 16 a 19% superiores, por cobrição natural ou por IA, do que os touros deficientes em FAA.

A presença de FAA num touro parece ser constante durante a sua vida em condições normais, sendo suficiente testar uma vez touros com maturidade sexual. Touros jovens negativos para FAA podem alterar a sua condição atingindo a maturidade sexual, devendo ser testados novamente (Hansen, 2006).

A pesquisa de FAA na prática pode ser realizada através de um teste rápido que permite a identificação da presença ou ausência de FAA através da utilização de um anticorpo específico. Para executar o teste mistura-se uma amostra de sémen com o reagente fornecido, que se coloca na cassette de testagem, a leitura do resultado é possível em vinte minutos (McGinley, 2005).



Existem investigações que pretendem desenvolver outros meios para prever a fertilidade dos touros. Um estudo recente (Peddinti *et al.*, 2008) comparou, através de técnicas biomoleculares, espermatozóides de touros com elevada fertilidade e com baixa fertilidade. Este estudo concluiu que os espermatozóides de touros com elevada fertilidade possuem maior expressão de proteínas que estão envolvidas no metabolismo energético, comunicação celular, espermatogénese e motilidade. Nos espermatozóides de baixa fertilidade identificaram-se problemas da integridade do ácido desoxirribonucleico (DNA) (Peddinti *et al.*, 2008).

## 4. Estudo de caso

### 4.1. Introdução

A escolha do tema do relatório deveu-se à importância que tem o touro na fertilidade e suas repercussões económicas ao nível das explorações de bovinos de produção de carne. Devido à predominância da cobrição natural nos sistemas extensivos, a *performance* reprodutiva do touro exerce influência direta sobre a taxa de fertilidade da exploração. Acontece que, muitas vezes, é desconhecida ou ignorada a capacidade reprodutiva dos touros utilizados nestas explorações.

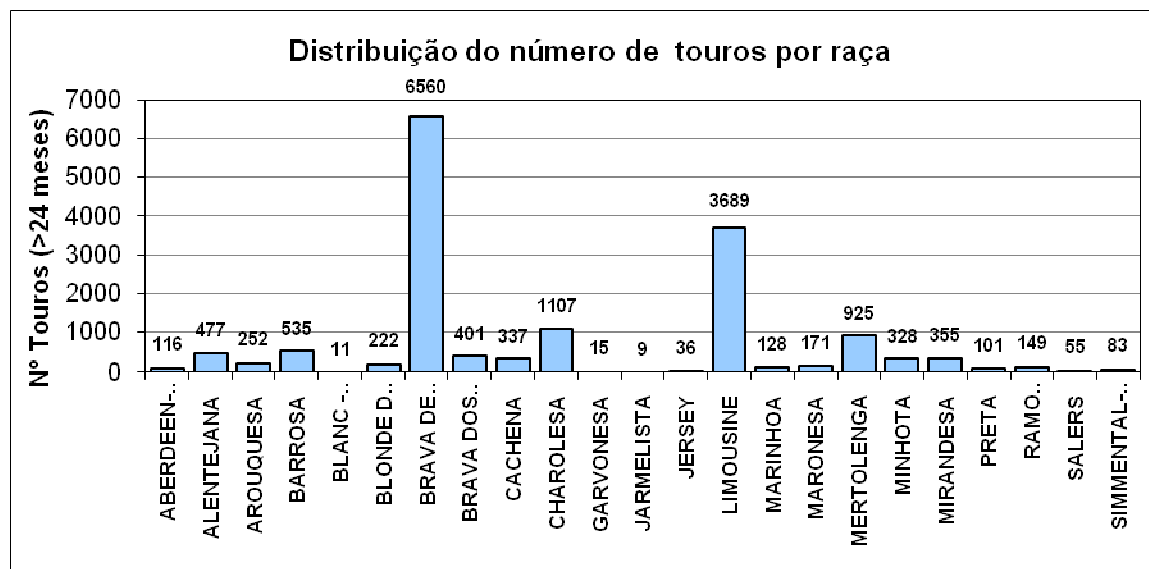
Pretendeu-se caracterizar o panorama das explorações do Sul de Portugal, no que concerne à qualidade dos touros utilizados, através dos exames andrológicos realizados.

Em Portugal existem cerca de 443.300 vacas de carne, de acordo com o Recenseamento Agrícola de 2009 (Instituto Nacional de Estatística [INE], 2011). As principais raças autóctones, avaliando o número de fêmeas inscritas, são a Mertolenga, a Alentejana, a Brava de Lide e a Barrosã. As raças exóticas mais utilizadas são a Limousine e a Charolesa (DGAV, 2011b). A maioria das fêmeas, nas vacadas comerciais em Portugal, para a produção de carne em sistema extensivo, provêm do cruzamento das raças exóticas e autóctones já mencionadas, procurando tirar partido das características maternas e da rusticidade das raças autóctones.

Os touros, na maioria dos casos, são de raças exóticas com o objetivo do melhoramento da *performance* produtiva. A escolha do touro normalmente é feita com base nas características da raça e nos aspetos físicos e genealógicos do animal.

Em Portugal, o exame andrológico de touros ainda não se realiza por rotina quando se adquire um novo reprodutor ou quando um macho é colocado em reprodução. Aparentemente a população de touros não está a ser selecionada para a fertilidade e, por isso, podem existir muitos reprodutores sub-férteis que comprometem a fertilidade da vacada e a rentabilidade económica das explorações.

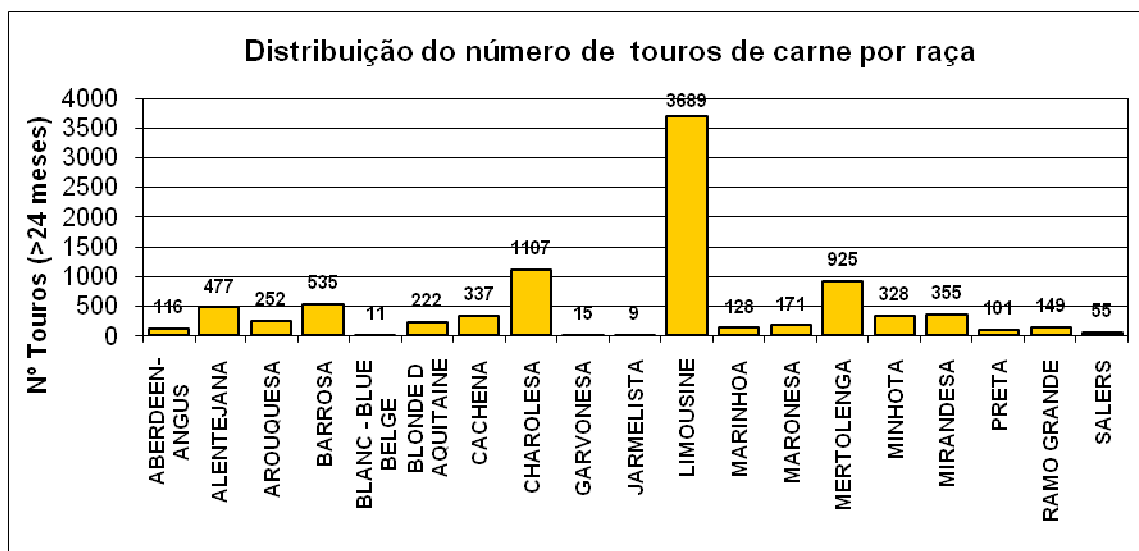
Para estimar a população dos touros em Portugal, consideraram-se os machos com mais de 24 meses registados através do SNIRA (Sistema Nacional de Identificação e Registo Animal – Decreto-Lei 142/2006 de 27 de julho). O Gráfico 10 representa o número de machos inscritos por raça.



**Gráfico 10: Distribuição do número de touros de carne por raça (DGAV, 2012)**

Com base nestes dados existem 16062 machos com mais de 24 meses. No caso da raça Brava de Lide, podemos afirmar que o número elevado de machos não corresponde ao número de touros mas, na sua maioria, aos machos que participarão nos eventos tauromáquicos. O número de touros utilizados como reprodutores nesta raça certamente ficará no nível dos de raça Mertolenga e Alentejana, atendendo o número de fêmeas inscritas na raça.

Se não considerarmos as raças Bravas de Lide o gráfico modificado (Gráfico 11) revela que as duas raças exóticas já referidas são as que fornecem o maior número de touros, sendo a raça Limousine a que tem maior difusão, seguida da Charolesa. Das raças autóctones as mais importantes, considerando o número de touros, são a Mertolenga, Barrosã e Alentejana. Não considerando as raças Bravas de Lide existem 8982 machos com mais de 24 meses assumindo este número como o universo de touros inscritos em raça pura em Portugal.



**Gráfico 11: Distribuição do número de touros de carne por raça não considerando a raça Brava de Lide e Brava de Lide dos Açores (DGAV, 2012)**

## 4.2. Materiais e métodos

Os dados dos exames andrológicos referem-se aos exames realizados em quatro anos (2008-2012) pela VetAl, no Alentejo e no Ribatejo, que incluem os dados dos exames efetuados durante todo o período de estágio. Os exames foram feitos por solicitação do proprietário. As motivações para o pedido de exame andrológico foram exame em ato de compra, exame de rotina na exploração no início da época reprodutiva e suspeita de problemas reprodutivos. Desta forma, podemos dizer que a amostra não é aleatória e corresponde essencialmente às solicitações reais dos bovinicultores destas regiões.

Os exames andrológicos realizados obedeceram à sequência convencional com exame de estado geral e físico do animal, exame do aparelho reprodutor, colheita de sêmen e avaliação das características macroscópicas e microscópicas do ejaculado. Os exames não incluíram a avaliação da libido. Para sistematizar a recolha de informação os dados eram registados numa folha de modelo próprio para exame andrológico (anexo).

A conjugação de todos os fatores em avaliação permitiram classificar os touros de acordo com a sua aptidão reprodutiva, sendo elaborado um relatório individual de cada exame.

#### **4.2.1. Exame físico**

O exame físico incluiu a medição da temperatura retal, a auscultação torácica para a avaliação do sistema cardio-respiratório e a auscultação abdominal para verificar a motilidade gastro-intestinal. A condição corporal dos animais foi pontuada numa escala de 1-9 (Eversole *et al.*, 2009) e inspecionou-se o animal para a presença de lesões oculares, feridas, ectoparasitas em excesso ou outras afeções visíveis. Os touros foram observados em locomoção para deteção de eventual claudicação.

#### **4.2.2 Exame do aparelho genital**

O exame do aparelho genital incluiu o exame interno, por via transretal, para a avaliação das glândulas sexuais acessórias e o exame externo com a inspeção e palpação do prepúcio, do escroto, funículo espermático, testículos e epidídimos. Aquando da palpação transretal executou-se também a massagem das glândulas sexuais anexas e avaliou-se a resposta através da exteriorização do pénis.

Realizou-se a tricotomia dos pelos do prepúcio para reduzir a contaminação das amostras de sémen aquando da colheita por eletroejaculação; nesta altura fez-se também a inspeção do prepúcio, quer da zona da pele quer da mucosa interna para avaliar presença de feridas, úlceras e outras lesões que pudessem comprometer o desempenho do touro.

O perímetro testicular foi medido utilizando uma fita-métrica flexível, colocando os dedos proximalmente, de forma a posicionar os testículos na parte mais ventral do escroto, de modo que os testículos fiquem um ao lado do outro, garantindo a eliminação das rugosidades da pele, de acordo com o descrito por Barth (2007).

#### **4.2.3. Colheita de sémen**

Para promover o relaxamento do esfíncter anal e a excitação sexual, realizou-se primeiro a massagem das glândulas sexuais acessórias aquando da palpação transretal, facilitando assim a inserção do eletroejaculador no reto (Figuras 29 e 30). Os ejaculados foram colhidos para copos de colheita pré-aquecidos colocados em banho-maria a 37°C; a parte inicial transparente dos ejaculados (que corresponde essencialmente a líquido seminal) não foi colhida. Registou-se, em todos os casos, se o touro exteriorizou o pénis

ou não durante a colheita, e esta informação foi considerada na interpretação dos espermogramas, quanto à eventual contaminação.

Por regra foi colhida uma amostra de sémen por cada touro examinado. Quando na avaliação microscópica havia dúvidas (poucos espermatozóides, motilidade muito reduzida, entre outros), realizou-se uma nova colheita com meia hora de intervalo.



**Figura 29: Eletroejaculador**  
(fotografia original)



**Figura 30: Colheita de sémen através de EEJ num touro de raça Limousine**  
(fotografia original)

#### 4.2.4. Avaliação do sémen

Todos os utensílios que entraram em contato com o sémen diretamente, foram aquecidas previamente a 37°C. Registaram-se as características macroscópicas dos ejaculados obtidos como cor (Figura 31), volume, consistência (que tenta estimar indiretamente a concentração) e a eventual contaminação.



**Figura 31: Comparação da cor de vários ejaculados (notar a contaminação de urina em alguns casos)**

Das características microscópicas foram avaliadas, imediatamente após a colheita na exploração, a motilidade massal e a motilidade individual. A motilidade massal foi avaliada colocando uma gota de sémen diretamente sobre uma lâmina, sem cobrir, e observada imediatamente utilizando um microscópio ótico, com platina aquecida, com a ampliação a 40x e 100x. A motilidade massal foi pontuada de 0 a 5, de acordo com Louge e Crawshaw (2004), correspondendo 5 a ondas rápidas e escuras e 0 a ausência de movimento.

A motilidade individual foi avaliada após colocação de uma gota de sémen sobre uma lâmina, diluída com solução salina a 0,9% coberta por uma lamela. A percentagem de espermatozóides com motilidade progressiva foi estimada através de microscopia ótica a 100x.

A estimativa de espermatozóides vivos (prova de coloração vital) e a morfologia espermática foram avaliados num esfregaço feito a partir de uma gota de sémen fresco misturado com uma gota do corante eosina-nigrosina na lâmina, estendendo o esfregaço com a ajuda de uma lamela. O esfregaço foi seco ao ar e foi observado posteriormente a 400x e a 1000x em objetiva de imersão. Foram contados 100 espermatozóides escolhidos aleatoriamente, e registou-se o número de espermatozóides com morfologia normal, o número de espermatozoides viáveis (vivos no momento em que o esfregaço foi feito) e o tipo das anomalias observadas, referindo as formas anormais mais frequentes.

#### **4.2.5. Classificação dos exames andrológicos**

Os animais foram classificados de acordo com as recomendações de 1993 da *The Society for Theriogenology* dos EUA e da *Western Canadian Association of Bovine Practitioners*, em reprodutor potencial satisfatório (aprovado), reprodutor potencial insatisfatório (reprovado) e aprovado condicionalmente. As condições necessárias para aprovação foram motilidade individual mínima 50%, percentagem de espermatozóides normais mínima de 70%, perímetro testicular mínimo de 30 cm e ausência de afeções físicas que possam interferir com a capacidade reprodutiva do touro.

Os exames com aprovação condicional corresponderam a casos que se situavam próximos dos limites estabelecidos ou apresentavam afeções potencialmente reversíveis,

tendo sido recomendado a repetição dos exames, no mínimo, 60 dias depois para decisão adequada.

#### **4.2.6. Modelo estatístico**

Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente recorrendo ao Proc Mixed e teste de qui-quadrado do SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA).

Na análise de variância do perímetro testicular foram considerados como efeitos fixos a raça (seis níveis), a idade (escala contínua) e pontuação de condição corporal (nove níveis).

Na análise de variância da morfologia espermática, motilidade individual e coloração vital os efeitos fixos considerados foram a raça, a idade, a condição corporal e o perímetro testicular.

Foram ainda calculadas as correlações entre os vários parâmetros, através do método de Pearson, recorrendo ao Proc Corr do SAS.

Calcularam-se ainda os “odds ratio” da aprovação para alguns fatores que podem influenciar o resultado do exame andrológico. O “odds ratio” é uma razão de probabilidades, expressando a relação entre a probabilidade de ocorrência e a probabilidade de não-ocorrência de um determinado evento (neste caso – aprovação).<sup>1</sup>

#### **4.2.7. Animais avaliados**

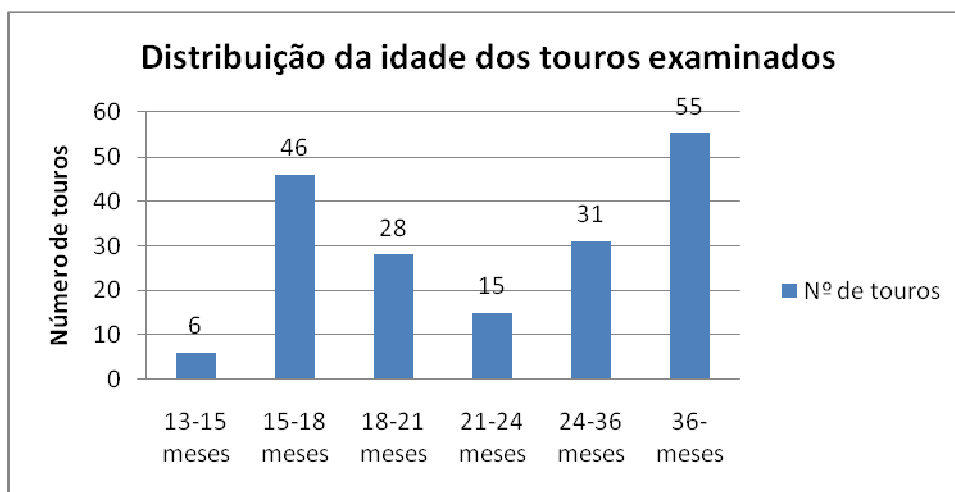
Foram realizados 184 exames andrológicos em 31 explorações diferentes. Os touros examinados pertenciam a seis raças diferentes: Alentejana, Charolesa, Limousine, Mertolenga, Mirandesa e Preta. Avaliaram-se tanto touros jovens (com menos de 24 meses) como touros adultos. O Gráfico 12 mostra a distribuição de idade dos touros examinados, segundo as categorias para as quais existem recomendações de circunferência escrotal pela SFT (menos de 15 meses, 15-18 meses, 18-21 meses, 21-24

---

<sup>1</sup> “odds ratio” de aprovação =  $\frac{\text{probabilidade(aprovado)}}{\text{probabilidade(reprovado)}}$



meses), acrescentando duas categorias para os touros adultos (24-36 meses, mais de 36 meses).



**Gráfico 12: Distribuição da idade dos touros examinados**

### 4.3. Resultados

Apresentam-se os resultados obtidos na estatística descritiva (Tabela 10) para os parâmetros, pontuação da condição corporal, perímetro testicular, número de ciclos de colheita; e das características seminais: a motilidade massal, a motilidade individual, morfologia (% de espermatozóides anormais) e teste de coloração vital (% de espermatozóides vivos).

**Tabela 10: Estatísticas descritivas para os vários parâmetros avaliados nos exames andrológicos em todos os touros**

Variável	n	Mínimo	Máximo	Média ± desvio padrão
Idade (meses)	181	13,71	137,22	35,31±26,43
Pontuação de condição corporal (1-9)	180	5	9	7,54±0,72
Perímetro testicular (cm)	170	26,5	48	37,39±3,53
Motilidade massal (0-5)	169	0	5	2,37±1,75
Motilidade individual (%)	173	0	90	65,25±17,9
Morfologia (% espermatozoides anormais)	160	1	92	16,41±18,2
Teste de coloração vital (% vivos)	158	20	93	75,49±12,57
Nº de ciclos de colheita	179	1	3	1,11±0,35

A Tabela 11 resume os resultados obtidos para as mesmas variáveis segundo as categorias de idade dos touros.

**Tabela 11: Resultados para os vários parâmetros avaliados nos exames andrológicos por categorias de idade (média± desvio padrão)**

Idade	13-15 meses n=6	15-18 meses n=46	18-21 meses n=28	21-24 meses n=15	24-36 meses n=31	36- meses n=55
Variável						
PCC (1-9)	7,58±0,66	7,85±0,36	7,61±0,6	7,71±0,47	7,42±0,72	7,25±0,91
Perímetro testicular (cm)	35,5±2,14	35,52±1,79	36,6±3,3	37,2±2,72	37,04±3,02	40,1±3,96
Motilidade massal (0-5)	2,5±1,87	1,87±1,72	2,71±1,6	3,08±1,62	2,35±1,87	2,45±1,75
Motilidade individual (%)	75±4,47	64,78±13,74	68,39±18,41	68,85±9,82	67,24±20,9	60,76±20,9
Morfologia (% spz anormais)	8,17±5,95	11,36±12,23	9,75±10,77	18,29±23,07	20,96±22,08	22,65±20,7
Teste de coloração vital (% vivos)	80,33±5,24	78,18±9,9	79,35±9,56	73,92±12,09	74,26±8,56	71,09±17,03
Nº de ciclos de colheita	1±0	1,11±0,31	1,14±0,36	1,07±0,27	1,1±0,3	1,13±0,44

Nota: spz - espermatozóides

Os touros avaliados foram classificados em: “aprovado”, “aprovado condicional” e “reprovado”. As reprovações ocorreram por causas seminais, anomalias na morfologia dos órgãos reprodutivos e causas físicas. Na Tabela 12 apresenta-se a distribuição das classificações dos exames andrológicos realizados, bem como das causas de reprovação.

**Tabela 12: Distribuição das classificações dos exames andrológicos realizados e das causas de reprovação**

Resultado do exame andrológico			Nº de touros	Frequência relativa	
Aprovado			133	72,28%	
Aprovado condicional			10	5,43%	
Reprovado	Causa de reprovação	Seminal	32	17,39%	22,28%
		Morfologia de órgãos reprodutivos	6	3,26%	
		Física	3	1,63%	
Total			184	100%	

Foram calculados os “odds ratio” de aprovação para os casos que apresentaram afeções seminais, alterações morfológicas ao nível dos órgãos reprodutivos e deficiências físicas (Tabela 13).

Para o cálculo destes consideraram-se os resultados “aprovado condicional” como “reprovado”, por apresentar valores abaixo dos considerados mínimos. Considerou-se a presença de afeção seminal, quando a motilidade individual mínima não atingiu os 50% e a percentagem de espermatozoides normais foi inferior a 70%, portanto as condições mínimas para a aprovação não foram atingidas.

**Tabela 13: “Odds ratio” de aprovação dos touros com afeções seminais, alterações morfológicas ao nível dos órgãos reprodutivos e deficiências físicas**

Afeção presente	n	Aprovado	Aprovado condicional	Reprovado	“Odds ratio” da aprovação
Seminal	35	0%	11%	89%	0
Morfologia de órgãos reprodutivos	28	18%	18%	64%	0,22
Física	11	18%	18%	64%	0,22

A análise das correlações (Tabela 14) entre os vários fatores avaliados, a idade do touro apresentou correlação significativa negativa com a pontuação da condição corporal ( $p<0,001$ ;  $r=-0,28$ ) e positiva com o perímetro testicular ( $p<0,001$ ;  $r=0,52$ ), a correlação é ainda significativa com a percentagem de anomalias espermáticas ( $p<0,01$ ;  $r=0,21$ ) e percentagem de espermatozóides vivos ( $p<0,01$ ;  $r=-0,22$ ). Detetou-se ainda correlação significativa positiva ( $p<0,05$ ) entre a percentagem de espermatozóides vivos e a motilidade individual, e entre a PCC e percentagem de espermatozóides vivos. A PCC mostrou ainda correlação significativa negativa com a percentagem de anomalias espermáticas ( $p<0,05$ ;  $r=-0,19$ ).

**Tabela 14: Correlações entre os vários parâmetros avaliados em todos os touros e número de observações (n)**

	PCC	Perímetro testicular (cm)	Motilidade individual (%)	Morfologia (% spz anormais)	Teste de coloração vital (% vivos)
Idade (meses)	-0,28*** n=180	0,52*** n=170	-0,09 n=173	0,21** n=160	-0,22** n=158
PCC		-0,04 n=170	0,18* n=173	-0,19* n=159	0,17* n=157
Perímetro testicular (cm)			-0,01 n=168	0,15 n=155	-0,03 n=153
Motilidade individual				-0,34*** n=159	0,37*** n=157
Morfologia (% spz anormais)					-0,18* n=155

Nota: indicam-se os valores estatisticamente significativos para  $p<0,001$ (\*\*\*),  $p<0,01$ (\*\*) e  $p<0,05$ (\*); spz – espermatozóides.

Comparando o perímetro testicular dos touros (Tabela 15) as diferenças foram significativas entre touros com idades diferentes ( $p<0,001$ ), entre raças ( $p<0,05$ ) e entre touros com PCC diferente ( $p<0,05$ ).

**Tabela 15: Resultados da análise de variância para o perímetro testicular.**

Fator	n	Graus de liberdade (GL)	Valor de F
Raça	184	5	2,37*
Idade	181	1	25,79***
Idade x Idade	181	1	7,63**
Condição corporal	180	1	6,61*

Nota: indicam-se apenas os fatores estatisticamente significativos para  $p < 0,001$ (\*\*\*),  $p < 0,01$ (\*\*) e  $p < 0,05$ (\*).

Analisou-se também o resultado final da avaliação dos machos em função das variáveis “comportamentais”, onde incluímos a resposta de exteriorização do pênis à estimulação quer por palpação transretal (Ext P) quer por EEJ (Ext E); investigou-se ainda a influência do número de ciclos de estimulação a que os touros foram sujeitos para provocar ejaculação (Tabela 16).

**Tabela 16: Resultados da análise de regressão logística da aprovação dos machos**

Fator	n	Graus de liberdade (GL)	Valor de qui quadrado
Ext P	169	1	0.25 <sup>ns</sup>
Ext E	169	1	4.24*
Nº ciclos	179	2	0.81 <sup>ns</sup>

Nota: indicam-se os fatores estatisticamente significativos para  $p < 0,05$ (\*) e ns= não significativo.

A Tabela 17 mostra o “odds ratio” de aprovação para a exteriorização do pênis à massagem transretal e durante a EEJ.

**Tabela 17: “Odds ratio” de aprovação para a exteriorização do pênis**

Variável	“Odds ratio” de aprovação
Não exteriorização do pênis durante a palpação transretal	2,47
Exteriorização do pênis à palpação transretal	4
Não exteriorização do pênis durante a EEJ	1,3
Exteriorização do pênis durante a EEJ	4,03

Na Tabela 18 apresentam-se os resultados da análise de variância da motilidade individual, da morfologia espermática e do teste de coloração vital. Em relação à motilidade individual as diferenças foram significativas entre raças ( $p < 0,05$ ). Quanto à morfologia espermática existiram diferenças significativas entre raças ( $p < 0,01$ ) e entre touros com diferente PCC ( $p < 0,05$ ). No teste de coloração vital as diferenças foram significativas para a idade ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 18: Resultados da análise de variância da motilidade individual, da morfologia espermática e do teste de coloração vital**

Variável dependente		Motilidade individual (%)	Morfologia (%) spz anormais)	Teste de coloração vital (% vivos)
Fator	GL	Valor de F	Valor de F	Valor de F
Raça (n=184)	5	3,02*	3,53**	0,68 <sup>ns</sup>
Idade (n=181)	1	1,35 <sup>ns</sup>	3,67 <sup>ns</sup>	6,18*
PCC (n=180)	1	1,59 <sup>ns</sup>	3,92*	3,49 <sup>ns</sup>
Perímetro testicular (cm) (n=170)	1	1,07 <sup>ns</sup>	0 <sup>ns</sup>	1,29 <sup>ns</sup>

Nota: indicam-se os fatores estatisticamente significativos para  $p < 0,01$ (\*\*) e  $p < 0,05$ (\*); ns= não significativo; spz – espermatozóides.

Comparando as seis raças (Tabela 19) existem diferenças significativas ( $p<0,01$ ) entre a raça Charolesa e a raça Limousine para o perímetro testicular, motilidade individual e anomalias espermáticas. As diferenças entre a raça Charolesa e Mirandesa são significativas ( $p<0,01$ ) para a motilidade individual e presença de anomalias espermáticas. Existem ainda diferenças significativas ( $p<0,05$ ) para o perímetro testicular entre a raça Charolesa e Preta, para a motilidade individual entre a raça Alentejana e Charolesa e para a morfologia entre a raça Charolesa e Mertolenga. Os valores do teste de coloração vital não apresentaram diferenças significativas entre raças.

**Tabela 19: Médias dos quadrados mínimos  $\pm$  erro padrão para os vários parâmetros avaliados em função da raça**

Raça	n	Perímetro testicular (cm)	Motilidade individual (%)	Morfologia (% spz anormais)	Teste de coloração vital (% vivos)
Alentejana	14	37,81 <sup>ab</sup> $\pm 0,8$	72,9 <sup>a</sup> $\pm 4,95$	14,61 <sup>ab</sup> $\pm 5,28$	75,38 $\pm 3,75$
Charolesa	68	38,22 <sup>a</sup> $\pm 0,38$	59,22 <sup>b</sup> $\pm 2,29$	23,98 <sup>b</sup> $\pm 2,56$	74,54 $\pm 1,87$
Limousine	84	36,83 <sup>b</sup> $\pm 0,31$	68,2 <sup>a</sup> $\pm 1,9$	14,06 <sup>ac</sup> $\pm 1,96$	75,1 $\pm 1,39$
Mertolenga	3	36,69 <sup>ab</sup> $\pm 1,66$	64,9 <sup>ab</sup> $\pm 9,94$	0,48 <sup>ac</sup> $\pm 10,17$	79,42 $\pm 7,22$
Mirandesa	9	38,31 <sup>ab</sup> $\pm 1,04$	76,36 <sup>a</sup> $\pm 6,16$	2,69 <sup>ac</sup> $\pm 6,31$	82,77 $\pm 4,48$
Preta	6	35,01 <sup>b</sup> $\pm 1,42$	64,61 <sup>ab</sup> $\pm 8,24$	10,13 <sup>bc</sup> $\pm 8,43$	73,00 $\pm 6,00$

Nota: médias com as mesmas letras não diferem significativamente ( $p<0,05$ ), spz – espermatozóides.

A partir da análise de variância anteriormente descrita obtiveram-se regressões lineares significativas para o perímetro testicular e pontuação da condição corporal e para o teste de coloração vital e idade. Para a relação do perímetro testicular e idade a regressão obtida foi quadrática.

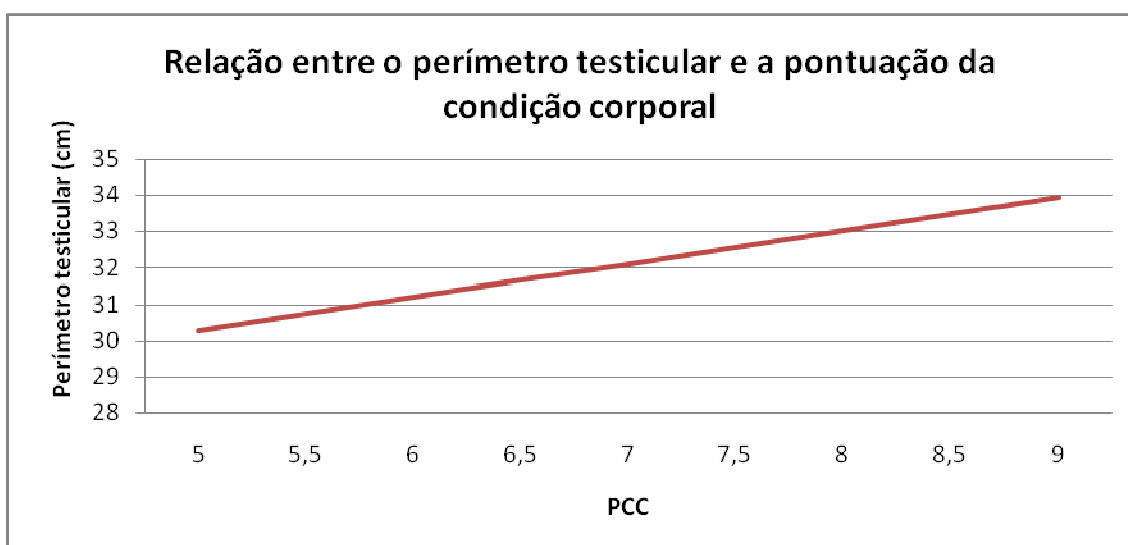
Quando analisámos a relação entre o perímetro testicular e a idade (Gráfico 13) através da regressão quadrática obtida, verifica-se um aumento do perímetro testicular até aos 102 meses com diminuição posterior.





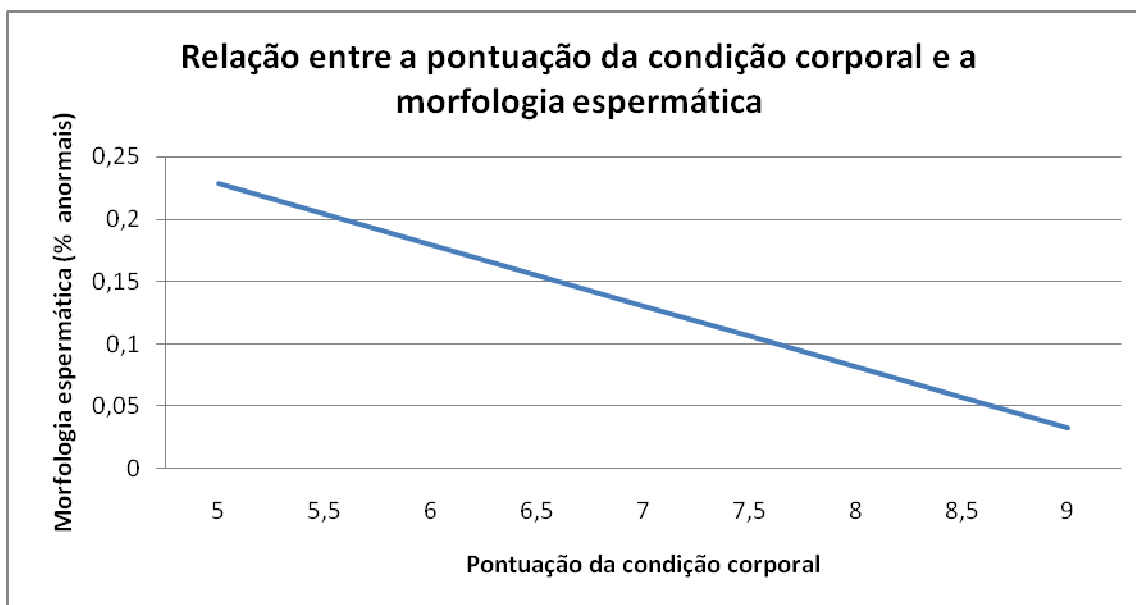
**Gráfico 13: Relação entre o perímetro testicular e a idade, valores da regressão quadrática obtida**

Relativamente à relação entre o perímetro testicular e a PCC (Gráfico 14) verificou-se o aumento do perímetro testicular com o aumento da PCC.



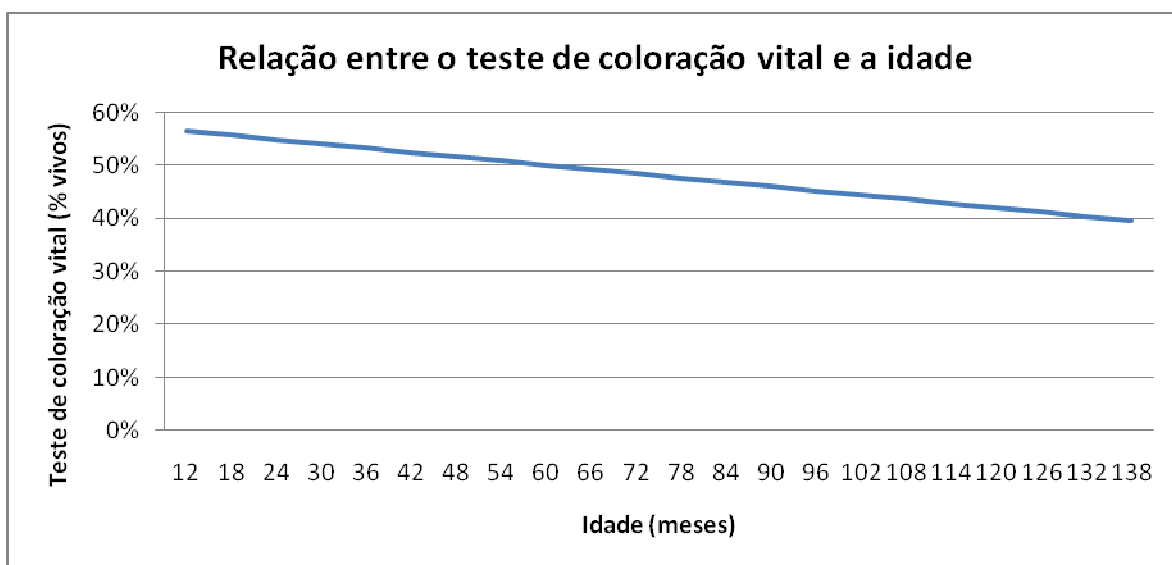
**Gráfico 14: Relação entre o perímetro testicular e a pontuação da condição corporal, representação gráfica da regressão linear obtida**

A percentagem dos espermatozóides morfologicamente anormais diminuiu com o aumento da PCC (Gráfico 15).



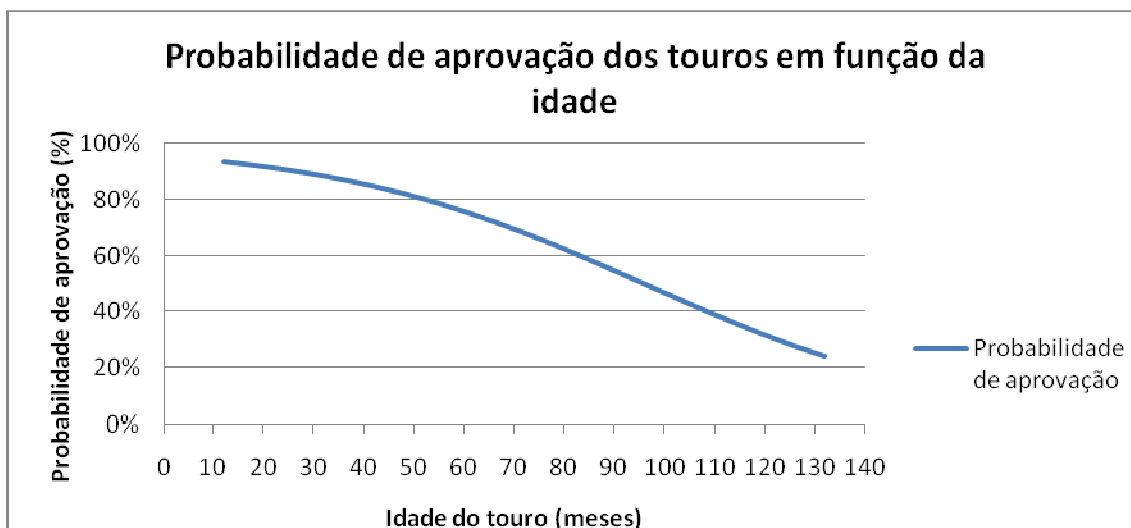
**Gráfico 15: Relação entre a pontuação da condição corporal e a morfologia espermática, representação gráfica da regressão linear obtida**

A percentagem dos espermatozóides vivos diminuiu com o aumento da idade (Gráfico 16).



**Gráfico 16: Relação entre o teste de coloração vital e a idade, representação gráfica da regressão linear obtida**

Foram calculados ainda os “odds ratio” gerais e a probabilidade de aprovação por idade (Gráfico 17), apresentando ambos tendência decrescente com o aumento da idade.



**Gráfico 17: Probabilidade de aprovação dos touros em função da idade dos touros em meses**

#### 4.4. Discussão

Neste trabalho analisaram-se dados obtidos pela VetAl (2008- 2012) relativamente à avaliação de touros através do exame andrológico, tentando caracterizar a população dos touros de carne no Sul de Portugal.

Como já foi referido os dados aqui obtidos não correspondem a uma amostra aleatória e representativa da população, no entanto, correspondem a uma amostra válida de um grupo de touros avaliados na sequência de pedido de exame andrológico em condições reais das explorações pecuárias.

Dos 184 exames realizados foram considerados como reprodutores satisfatórios (aprovados) 72,28% dos touros, 22,28% como reprodutores insatisfatórios (reprovados) e 5,43% foram aprovados condicionalmente. Estes resultados são semelhantes aos obtidos em touros de aptidão creatopoiética por Higdon III, *et al.* (2000) com 72% de aprovação e por Kennedy, *et al.* (2002) com 76,2%. Isto, apesar de os outros estudos, se referirem a touros jovens, com idades entre 10-20 meses, e de no presente trabalho serem abrangidas várias categorias de idade, com uma percentagem elevada de touros adultos (29,9% com mais de 36 meses).

A percentagem dos touros reprovados pelas várias causas foi semelhante à obtida em outros trabalhos. Neste estudo 17,39 % dos touros foram reprovados devido à deficiente

qualidade do sémen. Higdon III, *et al.* (2000) referem 16% de reprovação por características seminais e Kennedy *et al.* (2002) 13,6%. Nos estudos referidos a qualidade inadequada de sémen nos touros jovens está relacionada principalmente com o estabelecimento da puberdade, diminuindo a reprovação por características seminais com a idade. No presente estudo como se avaliaram poucos touros em idades próximas da puberdade, os resultados mostram outra tendência, nomeadamente o aumento da reprovação por características seminais com o aumento da idade. A diminuição da probabilidade de aprovação do touro com o aumento da idade é referida também por Walters (2012).

A correlação positiva significativa ( $p < 0,01$ ) da idade com a percentagem de espermatozóides anormais conjuntamente com a correlação negativa significativa ( $p < 0,01$ ) com a percentagem de espermatozóides vivos, traduzem o aumento da percentagem de espermatozóides inviáveis com a idade, aumentando assim, a probabilidade de reprovação dos touros por causas espermáticas. As alterações seminais com a idade podem ser justificadas com a maior probabilidade de ocorrência de traumatismo, *stress* ou outras afeções ao longo da vida do touro que levam a alterações na espermatogénese, para além da senilidade ou alterações histológicas do próprio parênquima testicular. Para o aumento da percentagem de espermatozóides anormais pode contribuir a PCC mais baixa dos animais mais velhos, de acordo com a regressão linear obtida entre a PCC e a morfologia espermática.

A reprovação por inadequada morfologia dos órgãos reprodutores foi de 3,26%. Como causa de reprovação em resultado do exame do aparelho genital incluíram-se os animais criptorquídeos, com fibropapiloma peniano e com afeções morfológicas dos testículos, epidídimo ou glândulas vesiculares.

Reprovaram-se apenas 1,63% por causas físicas (principalmente afeções músculo-esqueléticas), no entanto, o “odds ratio” de aprovação dos touros com alterações ao nível do exame físico ou na morfologia dos órgãos reprodutivos foi de apenas 0,22. Estes “odds ratio” indicam que um touro com estas afeções tem cerca de cinco vezes ( $1/5 = 0,2$ ) maior probabilidade de ser reprovado do que aprovado. Isto porque a presença de anomalias físicas, em muitos casos, se reflete na qualidade seminal, que foi apontada como causa de reprovação.

Os problemas físicos podem originar condições dolorosas para o animal (como o caso das claudicações) que devido ao *stress* afetam a função testicular através de um mecanismo endócrino. O aumento da produção de cortisol com o *stress* leva à redução de LH pela hipófise anterior, afetando deste modo a produção de testosterona pelas células de *Leydig* e consequentemente a espermatogénese, a função das glândulas sexuais acessórias e do epidídimo (Barth, 2007; Chenoweth e Kastelic, 2007).

Consideraram-se alguns fatores, classificáveis como comportamentais, nomeadamente o número de ciclos de estimulação necessários para conseguir ejaculação e a exteriorização do pénis como resposta à massagem das glândulas sexuais acessórias e EEJ. Destes fatores, a exteriorização do pénis como resposta à EEJ influenciou significativamente a aprovação dos touros ( $p < 0,05$ ). A probabilidade de aprovação é maior nos touros que fazem exteriorização do pénis aquando da EEJ, sendo o “odds ratio” de aprovação destes machos de 4,03, o que pode constituir um fator indicativo, aquando da falta de exteriorização, permitindo eventualmente uma maior atenção no exame a esses animais.

Analisando os resultados obtidos, podemos concluir que a idade apresenta uma correlação muito significativa com o perímetro testicular ( $p < 0,001$ ;  $r = 0,52$ ), o que corresponde ao crescimento normal dos testículos com a idade que só termina na fase adulta (Parkinson, 2001). As diferenças do perímetro testicular foram significativas para a raça ( $p < 0,05$ ), idade ( $p < 0,001$ ) e PCC ( $p < 0,05$ ).

A diminuição do perímetro testicular com a idade após os 102 meses (8,5 anos) pode traduzir a maior probabilidade de existir degenerescência testicular, com atrofia, numa idade mais avançada. Parkinson (2001) refere a existência de degenerescência testicular progressiva e irreversível em animais mais velhos que, inicialmente, se traduz pelo aumento do número de espermatozóides anormais e, mais tarde, leva a oligospermia e fibrose testicular.

A correlação negativa significativa ( $p < 0,001$ ) entre a idade e a PCC pode, eventualmente, justificar-se apenas com o manejo. Os animais mais novos, que ainda não foram postos à cobrição, normalmente consomem dietas com níveis mais elevados de concentrado, muitas vezes estão ainda nas explorações que vendem os reprodutores, ao contrário dos mais velhos que já iniciaram a sua vida reprodutiva e que muitas vezes

não têm o acompanhamento nutricional adequado às necessidades fisiológicas do momento.

De acordo com os resultados, a PCC possui correlações significativas ( $p < 0,05$ ) com os vários parâmetros espermáticos incluídos na análise. Com o aumento da condição corporal aumenta o valor de motilidade individual e a percentagem de espermatozóides vivos no teste de coloração vital e diminui a percentagem de espermatozóides anormais. Estes resultados estão de acordo com os de Hansen (2006) no que respeita a influência da condição corporal sobre a qualidade espermática.

Na avaliação dos vários parâmetros microscópicos do sémen encontraram-se correlações significativas, que estão de acordo com os resultados obtidos por Sharma, *et al.* (2012) e Vyas, *et al.* (1992). A motilidade individual, a morfologia e a coloração vital estão ligados entre si, por isso a existência possível de correlação significativa entre eles era esperada. A presença de espermatozóides anormais em percentagens elevadas afeta a motilidade individual dos espermatozóides e várias anomalias interferem com a viabilidade do espermatozóide. Obteve-se correlação positiva significativa entre a percentagem de espermatozóides vivos e a motilidade individual ( $p < 0,001$ ;  $r = 0,37$ ) tal como Sharma, *et al.* (2012) referem. A correlação foi negativa significativa entre a percentagem de formas anormais e motilidade individual ( $p < 0,001$ ;  $r = -0,34$ ) e entre a percentagem de formas anormais e a percentagem de espermatozóides vivos ( $p < 0,05$ ;  $r = -0,18$ ), de acordo com os resultados obtidos por Vyas, *et al.* (1992).

Obtiveram-se diferenças significativas entre raças ao nível do perímetro testicular, da motilidade individual e da morfologia espermática. No entanto, para avaliar a existência de diferenças entre as raças incluídas neste estudo, seria necessário estudar uma amostra representativa de cada raça, com um número adequado de indivíduos.

Muitos produtores só começam a utilizar um touro quando este já atingiu os 24 meses de idade, no entanto vários estudos debruçam-se sobre a utilização de touros com idade inferior, porque se demonstrou que a utilização precoce destes torna mais eficiente a sua utilização como reprodutores (Kasari *et al.*, 1996 citados por Hopkins, 2005). A idade mínima para utilização de touros estará relacionada com a idade à puberdade e corresponderá ao momento a partir do qual o touro já tem qualidade de sémen que

satisfaz os critérios do exame andrológico e tem desenvolvimento corporal suficiente para ser capaz de cobrir uma vaca.

Arteaga *et al.* (2001) referem que aos 15 meses de idade já 61% dos animais têm motilidade, morfologia e concentração espermática adequadas. Recomenda-se o início de utilização 3-4 meses após o estabelecimento da puberdade (Selk, 2010), já que neste período, se verifica um aumento da concentração espermática e a da percentagem de espermatozóides normais (Chenoweth e Kastelic, 2007).

Na seleção de reprodutores a atenção centra-se nas características geneticamente transmissíveis, exigindo uma atualização contínua com o desenvolvimento científico. Na determinação dos critérios de seleção as considerações genéticas devem incluir, para além dos efeitos diretos, a relação (correlação favorável ou desfavorável ou independência) entre as características produtivas e reprodutivas (Chenoweth, 2011).

A medição e seleção para o perímetro testicular nos jovens devia fazer parte dos programas de seleção de todas as raças, se pretendermos escolher um critério único para a fertilidade (Corah *et al.*, sem data). Trata-se de uma medida indireta do peso dos dois testículos que, por sua vez, é direta e altamente correlacionada com a produção diária de espermatozóides (Barth, 2007).

Ao mesmo tempo o perímetro testicular possui uma heritabilidade elevada (0,36-0,68), correlação forte com a qualidade do sémen e com o estabelecimento da idade de puberdade do touro e das filhas do touro (Corah *et al.*, sem data).

Para atingir progresso genético ao nível da fertilidade poderá ser necessário desenvolver os valores de EPD (*expected progeny difference*) para o perímetro testicular ou para outros índices reprodutivos, tal como outros dados que já existem nas associações de raças para outras características, como a qualidade de carcaça, facilidade de parto ou capacidade de produção leiteira (Brinks, 1994).

Seria importante ainda a avaliação do sémen dos reprodutores potenciais, de modo a evitar a seleção de animais com defeitos espermáticos geneticamente transmissíveis. Embora se considere que a maioria dos defeitos espermáticos seja devido a causas ambientais, existe uma lista crescente de defeitos estruturais dos espermatozóides, para quais se demonstrou possuírem transmissão genética. A utilização de novas tecnologias como a fertilização *in vitro* ou a injeção intracitoplasmática de espermatozóides podem

levar à propagação de problemas genéticos não conhecidos que, em condições normais, não aconteceriam (Chenoweth, 2005), visto que não ocorreria fecundação.

O aumento da vida útil do touro é um interesse económico, além disso os novilhos com menos de dois anos de idade são mais baratos, avaliando o custo por vaca coberta ao longo da vida do touro, e existe maior oferta destes (Kasari *et al.*, 1996, citados por Hopkins, 2005).

Os resultados obtidos neste trabalho reforçam a importância de realização de exames andrológicos não só nos touros jovens mas também nos touros adultos.

#### **4.5 Conclusão**

O exame andrológico é fundamental para a gestão da fertilidade global da exploração pecuária que, por sua vez, está em estreita ligação com a rentabilidade da exploração.

Neste momento a aquisição de um reprodutor em Portugal, geralmente não oferece garantias quanto ao potencial reprodutivo, a menos que seja exigido o exame andrológico. Com base nesta prova é possível prever e distinguir a capacidade reprodutiva do animal, o que é importante como critério de escolha. Por outro lado, o conhecimento deste potencial reprodutivo poderá permitir a seleção também destes caracteres na descendência. Visto que, atualmente, a decisão é sobretudo condicionada apenas por fatores produtivos, seria importante considerar a inclusão de critérios reprodutivos.

Os resultados do presente trabalho mostram que, em Portugal e nas explorações de produção de carne que solicitam exame andrológico, há uma proporção de 72,28% dos touros aptos como potenciais reprodutores, que é semelhante à descrita noutros países, aumentando a probabilidade de reprovação tendencialmente com a idade. Entre as causas de reprovação há uma percentagem de 17,39% que o são por causas seminais, eventualmente em associação com causas morfológicas e outras o que, por si só, indica como muito importante a avaliação espermática.

Em parâmetros reprodutivos importantes como o perímetro testicular existe influência da idade ( $p < 0,001$ ), da raça ( $p < 0,05$ ) e da PCC ( $p < 0,05$ ). Encontraram-se correlações significativas para vários dos parâmetros avaliados tais como entre o perímetro



testicular e a idade ( $p<0,001$ ;  $r=0,52$ ) a PCC e os parâmetros seminais microscópicos ( $p<0,05$ ) e dos vários parâmetros entre si.

Poderia ser interessante estudar a influência da idade e da PCC nos parâmetros reprodutivos independentemente. Visto que o manejo nutricional praticado pode justificar a correlação negativa significativa obtida ( $p<0,001$ ) entre a idade e a PCC, seria possível neste caso separar as influências destes fatores.

Perante estes dados verifica-se que o exame andrológico é uma ferramenta essencial para conhecer o potencial reprodutivo dos touros e afigura-se essencial promover a realização destes exames nas explorações de bovinos de carne em Portugal como forma de melhorar os níveis de fertilidade global da exploração e a rentabilidade da mesma.

## Bibliografia

- Abbott, K. A., Taylor, M., Stubbings, L. A. (2009). *Sustainable Control of Parasites in Sheep. Sustainable Worm Control Strategies for Sheep. A Technical Manual for Veterinary Surgeons and Advisers*. (3<sup>rd</sup> ed.). SCOPS. ISBN: 0-9547447-3-X.
- Apifarma. (2007). *Simposium veterinário*. Apifarma 2007-2008. Lisboa: CESA – Comissão Especializada para a Saúde Animal. ISBN: 978-972-98759-4-6.
- Arteaga, A., Baracaldo, M., Barth, A. D. (2001). The proportion of beef bulls in western Canada with mature spermograms at 11 to 15 month of age. *Canadian Veterinary Journal*, 42, 783-787.
- Baker, I. D. (2004). Vaccines and Vaccination of Cattle. In Andrews, A. H., Blowey, R. W., Boyd, H., Eddy, R. G. (Eds) *Bovine Medicine. Diseases and Husbandry of Cattle*. (2<sup>nd</sup> Ed). (pp. 1004-1018). Oxford: Blackwell Science. ISBN: 0-632-05596-0.
- Barbosa, M. (2011). Identificação Equina. Implementação do Regulamento (CE) nº 504/2008 de 6 de junho, Direção Geral de Veterinária. Divisão de Identificação Animal, Registo e Licenciamento de explorações.
- Barth, A. D. (2007). Evaluation of Potential Breeding Soundness of the Bull. In Youngquist, R. S., Threlfal, W. R. (Eds) *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (2<sup>nd</sup> ed). (pp. 228-240) Philadelphia: Saunders. ISBN 13: 978-0-7216-9323-1.
- Bazer F., Cunningham W., Marsh D. (2007). Pregnancy Diagnosis. In Youngquist, R. S., Threlfal, W. R. (Eds) *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (2<sup>nd</sup> ed). (pp. 661-666) Philadelphia: Saunders. ISBN 13: 978-0-7216-9323-1.
- Brinks, J. S. (1994). Relationship of Scrotal Circumference to Puberty and Subsequent Reproductive Performance in Male and Female Offspring. University of Florida. (pp. 1-9).  
Acedido em 29-06-2012, disponível em  
<http://www.animal.ufl.edu/extension/beef/shortcourse/1990/BRINKS2.PDF>

- Brito, L. F. C., Silva, A. E. D. F., Barbosa, R. T., Unanian, M. M. Kastelic, J. P. (2003). Effects of scrotal insulation on sperm production, semen quality, and testicular echotexture in *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* bulls. *Animal Reproduction Science*, 79, 1-15.
- Bruner, K. A., McCraw, R. L., Whitacre, M. D., Van Camp, S. D. (1995). Breeding soundness examination of 1952 yearling beef bulls in North Carolina. *Theriogenology*, 44, 129-145.
- Chenoweth, P. J. (2002). Bull breeding soundness exams and beyond. In Johnson, S. K. (Ed) *Proceedings, The Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle Workshop. Manhattan, Kansas, USA, September 5-6*. (pp. 174-181).
- Chenoweth, P. J. (2005). Genetic sperm defects. *Theriogenology*, 64, 457-468.
- Chenoweth, P. J. (2011). Reproductive selection of males: current and future perspectives. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 35 (2), 133-138.
- Chenoweth, P.J., Kastelic, J. P. (2007). Clinical Reproductive Physiology and endocrinology of Bulls. In Youngquist, R. S., Threlfal, W. R. (Eds) *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (2<sup>nd</sup> ed). (pp. 221-227) Philadelphia: Saunders. ISBN 13: 978-0-7216-9323-1.
- Corah, L. R., Ritchie, H., Selk, G. (sem data). The Reproductive and Nutritional Management of Beef Bulls. Beef Cattle Handbook. BCH-2030. University of Wisconsin. (pp. 1-5). Acedido em 08-07-2012, disponível em
- Decreto-Lei n.º 114/99 de 14 de abril. *Diário da República n.º 87/99 – I série*. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.
- Decreto-Lei n.º 244/2000 de 27 de setembro. *Diário da República n.º 224/2000 – I série*. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.
- Decreto-Lei n.º 272/2000 de 8 de novembro. *Diário da República n.º 258/2000 – I série*. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

Decreto-Lei n.º 142/2006 de 27 de julho. *Diário da República n.º 144/2006 - I série*.  
Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

Decreto-Lei n.º 148/2008 de 29 de junho. *Diário da República n.º 145/2008 - I série*.  
Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

Decreto-Lei n.º 314/2009 de 28 de outubro. *Diário da República n.º 209/2009 - I série*.  
Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

DGAV - Direção Geral de Alimentação e Veterinária. (2011a). Edital n.º 28. Febre  
Catarral Ovina. Língua Azul. Lisboa.

DGAV - Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2011b). Número de fêmeas  
activas inscritas no Livro de Adultos. Acedido em 08-07-2012, disponível em  
[http://www.dgv.min-  
agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look\\_parentBoui=520984&att\\_display=n&  
att\\_download=y](http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look_parentBoui=520984&att_display=n&att_download=y)

DGAV - Direção Geral de Alimentação e Veterinária. (2011c). Edital n.º 29. Febre  
Catarral Ovina. Língua Azul. Lisboa. Acedido em 23-05-2012, disponível em  
[http://www.dgv.min-  
agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look\\_parentBoui=1767495&att\\_display=n  
&att\\_download=y](http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look_parentBoui=1767495&att_display=n&att_download=y)

DGAV - Direção Geral de Alimentação e Veterinária. (2012). Número de touros  
registados no SNIRA. Comunicação pessoal.

DSSPA -Direção dos Serviços de Saúde e Proteção Animal (2009). Programa de  
erradicação da Tuberculose bovina. Direção Geral de Veterinária. Lisboa.

DSSPA - Direção dos Serviços de Saúde e Proteção Animal (sem data). Programa de  
erradicação plurianual da leucose enzoótica bovina 2011-2013. Direção Geral de  
Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido em 05-05-2012, disponível em  
[http://www.dgv.min-  
agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look\\_parentBoui=65919&att\\_display=n&at  
t\\_download=y](http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look_parentBoui=65919&att_display=n&att_download=y)

DSSPA - Direção dos Serviços de Saúde e Proteção Animal. (2011a). Programa de  
erradicação da brucelose dos bovinos 2012. Direção Geral de Alimentação e  
Veterinária. Lisboa. Acedido em 06-05-2012, disponível em

[http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look\\_parentBoui=2949380&att\\_display=n&att\\_download=y](http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look_parentBoui=2949380&att_display=n&att_download=y)

DSSPA - Direção dos Serviços de Saúde e Proteção Animal. (2011b). Programa de erradicação da brucelose dos pequenos ruminantes 2012. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido em 06-05-2012, disponível em [http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look\\_parentBoui=3037105&att\\_display=n&att\\_download=y](http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look_parentBoui=3037105&att_display=n&att_download=y)

DSSPA - Direção dos Serviços de Saúde e Proteção Animal. (2012). Programa de erradicação, controlo e vigilância da Língua Azul 2012. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Lisboa. Acedido em 29-07-2012, disponível em [http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/eradication/programme2012/bt\\_pt.pdf](http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/eradication/programme2012/bt_pt.pdf)

DSVRA – Direção de Serviços Veterinários da Região do Alentejo. (2010). Programa de erradicação da tuberculose bovina – 2010 – idade dos bovinos a submeter à prova IDT. 267/DSVRA.

Duro, L. S. L. S. (2010). *Parasitismo gastrointestinal em animais da Quinta pedagógica dos Olivais. Especial referência aos mamíferos ungulados*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa. Acedido em 09-06-2012, disponível em

<http://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/2624/1/Parasitismo%20gastrointestinal%20em%20animais%20da%20quinta%20pedagogica%20dos%20Olivais.%20Especial%20referencia%20aos%20mamiferos%20ungulados.pdf>

Engelken, T. J. (2008). The development of beef breeding bulls. *Theriogenology*, 70, 573-575.

Eversole, D. E., Browne, M. F., Hall, J. B., Dietz, R. E. (2009). Body Condition Scoring Beef Cows. Virginia State University. Virginia Cooperative Extension. 400-795. Acedido em 30-05-2012, disponível em <http://pubs.ext.vt.edu/400/400-795/400-795.html>

Fanning, M., Selph, J., Eubanks, S. (2007). Florida Cow-Calf Management, 2<sup>nd</sup> Edition – Managing Reproduction. University of Florida. IFAS Extension. (pp. 1-14). Acedido em 14-05-2012, disponível em <http://edis.ifas.ufl.edu/an119>

- Farrell, P.B., Presicce, G. A., Brockett, C. C., Foote, R. H. (1998). Quantification of bull sperm characteristics measures by computer-assisted sperm analysis (CASA) and the relationship to fertility. *Theriogenology*, 49, 871-879.
- Freneau, G. E., Chenoweth, P. J., Ellis, R., Rupp, G. (2010). Sperm morphology of beef bulls evaluated by two different methods. *Animal Reproduction Science*, 118, 176-181.
- Freneau, G. E. (2011). Aspectos da morfologia espermática em touros. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 35 (2), 160-170.
- Gadberry, S. (2002). Beef Cattle Nutrition Series Part 3: Nutrient Requirement Tables. Extension Bulletin MP391. University of Arkansas. Acedido em 01-06-2012, disponível em [http://www.uaex.edu/Other\\_Areas/publications/PDF/MP391.pdf](http://www.uaex.edu/Other_Areas/publications/PDF/MP391.pdf)
- Gordon, J. L., Thomson, D. U. (2009). Feedlot Vaccination Protocols. In D. A. Anderson & M. Rings (Eds), *Current Veterinary Therapy. Food Animal Practice*. (5<sup>th</sup> Ed.). (pp. 652-658). St. Louis, Missouri: Saunders. ISBN: 978-1-4160-3591-6.
- Gosey, J. A. (1983). Breeding Soundness Examination of Beef Bulls. Historical materials from University of Nebraska – Lincoln Extension. (pp. 1-8.) Acedido em 16-05-2012, disponível em <http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1318&context=extensionhist>
- Hansen, G. R. (2006). Managing Bull Fertility in Beef Cattle Herds. University of Florida. IFAS Extension. (pp. 1-9). Acedido em 15-04-2012, disponível em <http://edis.ifas.ufl.edu/an153>.
- Higdon III, H. L., Spitzer, J. C., Hopkins, F. M., Bridges Jr., W. C. (2000). Outcomes of breeding soundness evaluation of 2898 yearling bulls subjected to different classification systems. *Theriogenology*, 53, 1321-1332.
- Hopkins, F. M. (2005). Breeding soundness evaluations and beyond. In *Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle, Lexington, Kentucky, USA, 1-2 November*. (pp. 213-219).
- Hopkins, F. M. (2007). Diseases of the Reproductive System of the Bull. In Youngquist, R. S., Threlfal, W. R. (Eds) *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (2<sup>nd</sup> ed). (pp. 240-243) Philadelphia: Saunders. ISBN 13: 978-0-7216-9323-1.

- Instituto Nacional de Estatística. (2011). Recenseamento agrícola 2009 – Dados definitivos. Acedido em 08-07-2012, disponível em [http://www.anmp.pt/files/dpeas/2011/div/RecenseamentoAgr2009\\_TextoDestaqueINE.pdf](http://www.anmp.pt/files/dpeas/2011/div/RecenseamentoAgr2009_TextoDestaqueINE.pdf)
- Kastelic, J. P., Cook, R. B., Coulter, G. H., Saacke, R. G. (1996). Insulating the scrotal neck affects semen quality and scrotal/testicular temperatures in the bull [abstract]. *Theriogenology*, 45(5), 935-42.
- Kahn, C.M. (Ed.) (2011). The Merck Veterinary Manual. (9<sup>th</sup> ed.) Whitehouse Station, NJ, USA:Merck Sharp & Dohme Corp. Acedido em 06-05-2012, disponível em <http://www.merckvetmanual.com>
- Kennedy, S. P., Spitzer, J. C., Hopkins, F. M., Higdon III, H. L., Bridges Jr., W. C. (2002). Breeding soundness evaluations of 3648 yearling beef bulls using the 1993 Society for Theriogenology guidelines. *Theriogenology*. 58, 947-961.
- LeaMaster, B. R., DuPonte, M. W. (2007). Bull Power: Examination of Beef Cattle Bulls for Breeding Soundness. University of Hawaii at Manoa. Cooperative Extension Service. (pp. 1-3). Acedido em 06-07-2012, disponível em <http://www2.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/LM-17.pdf>
- Lopes da Costa, L. (2008). Controlo da reprodução em efectivos bovinos de produção de carne. *Revista Portuguesa de Buiatria*, 12(13), 5-14.
- Louge, D. N., Crawshaw, W. M. (2004). Bull infertility. In Andrews, A. H., Blowey, R. W., Boyd, H., Eddy, R. G. (Eds) *Bovine Medicine. Diseases and Husbandry of Cattle*. (2<sup>nd</sup> Ed). (pp. 594-626). Oxford: Blackwell Science. ISBN: 0-632-05596-0.
- Lunstra, D. D., Ford, J. J., Echternkamp, S. E. (1978). Puberty in Beef Bulls: Hormone Concentrations, Growth, Testicular Development, Sperm Production and Sexual Aggressiveness in Bulls of Different Breeds. *Journal of Animal Science*, 46, 1054-1062.
- Mainil, J. (Ed.) (2006). Genus Clostridium. Clostridia in medical, veterinary and food microbiology. Diagnosis and typing. Brussels: European Commission. Directorate-General for Research. ISBN: 92-79-00422-0.

- Malone F. (2004). Clostridial Diseases of Cattle and Sheep. In *Annual meeting of the Association of Veterinary Surgeons Practising in Northern Ireland, Enniskillen, October*. (pp. 1-8).
- Menon, A. G. , Barkema, H. W., Wilde, R., Kastelic, J. P., Thundathil, J. C. (2011). Associations between sperm abnormalities, breed, age and scrotal circumference in beef bulls. *Canadian Veterinary Journal*, 75(4), 241-247.
- McGinley, S. (2005). Determining Bull Fertility. A faster test. In *Arizona Agricultural Experiment Station Research Report*. University of Arizona. College of Agriculture and Life Sciences. (pp. 11).
- Noakes, D. E. (2001a). Normal Oestrus Cycles. In Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W. (Eds). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (8th ed.). (pp. 3-56). London: W.B. Saunders. ISBN 13: 978-0702025563.
- Noakes, D. E. (2001b). Dystocia and Other Disorders Associated with Parturition. In Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W. (Eds). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (8th ed.). (pp. 205-340). London: W.B. Saunders. ISBN 13: 978-0702025563.
- Nöthling, J. O., Irons, P. C. (2008). A simple multidimensional system for the recording and interpretation of sperm morphology in bulls. *Theriogenology*, 69, 603-611.
- OIE - *Office International des Épidémiologies* (2009). Bluetongue. Aetiology, Epidemiology, Diagnosis, Prevention and Control References. OIE Technical Disease Cards. Acedido em 04-05-2012, disponível em [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal\\_Health\\_in\\_the\\_World/docs/pdf/BLUETONGUE\\_FINAL.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/BLUETONGUE_FINAL.pdf)
- Palmer, C. W. (2005). Welfare aspects of theriogenology: Invetigating alternatives to electroejaculation of bulls. *Theriogenology*, 64, 469-479.
- Parkinson, T. J. (2001). The Male Animal. In Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W. (Eds). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (8th ed.). (pp. 673-781). London: W.B. Saunders. ISBN 13: 978-0702025563.
- Peddinti, D., Nanduri, B., Kaya, A., Feugang, J. M., Burgess, S. C., Memili, E. (2008). Comprehensive proteomic analysis of bovine spermatozoa of varying fertility rates and identification of biomarkers associated with fertility. *BMC Systems Biology*, 2:19.



- Perry, G., Walker, J., Daly, R. (2008). Reproductive Fertility in Herd Bulls. Acedido em 21-05-2012, disponível em <http://www.thebeefsite.com/articles/1491/reproductive-fertility-in-herd-bulls>
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., Constable, P. D. (2006). *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses*. (10<sup>th</sup> ed.). Oxford: Saunders Elsevier. ISBN: 978-0-7020-2777-2.
- Regulamento n.º 504/2008 de 6 de junho. *Jornal Oficial da União Europeia L 149/3*. Comissão. Bruxelas.
- Robalo Silva, J., Lopes da Costa, L. (2010). Avaliação da função reprodutiva do touro para sistemas de produção em extensivo: componentes da avaliação, protocolos e guia de interpretação. *Revista Portuguesa de Buiatria*, 14(15), 39-54.
- Roitt, I. (1994). Prophylaxis. In *Essential Immunology*. (8<sup>th</sup> ed.). (pp. 272-292). Oxford: Blackwell Scientific Publications. ISBN 13: 978-0-6320-3313-3.
- Selk, G. (2010). Management of Beef Bulls. Oklahoma State University. Cooperative Extension Service. ANSI-3254. (pp. 1-8). Acedido em 14-05-2012, disponível em <http://pods.dasnr.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-1922/F-3254web.pdf>
- Scott, P. R., Hall, G. A., Jones, P. W., Morgan, J. H. (2004). Calf Diarrhoea. In Andrews, A. H., Blowey, R. W., Boyd, H., Eddy, R. G. (Eds) *Bovine Medicine. Diseases and Husbandry of Cattle*. (2<sup>nd</sup> Ed). (pp. 185-214). Oxford: Blackwell Science. ISBN: 0-632-05596-0.
- Sharma, M., Singh, M., Kapoor, S., Jasial, S. (2012). Inter relationship between some routine semen evaluation parameters in Jersey X local hill cattle crossbred bulls. *Open Veterinary Journal*, 2, 26-31.
- Spitzer, J. C., Hopkins, F. M., Chenoweth, P. J. (1998). New Guidelines for Breeding Soundness Evaluation (BSE) of Bulls. Clemson University. Cooperative Extension Service. Acedido em 10-05-2012, disponível em [http://www.clemson.edu/extension/livestock/livestock/beef/beef\\_cattle\\_db/factsheets/bc\\_2011.html](http://www.clemson.edu/extension/livestock/livestock/beef/beef_cattle_db/factsheets/bc_2011.html)

- Taylor, M. A. (2010). COWS. Control of Worms Sustainably. Sustainable worm control strategies for cattle. EBLEX. Acedido em 10-06-2012, disponível em [http://www.eblex.org.uk/documents/content/research/cows\\_manual\\_2010\\_plus.pdf](http://www.eblex.org.uk/documents/content/research/cows_manual_2010_plus.pdf)
- Vyas, S., Mohan, G., Dhami, A. J., Sahni, K. L. (1992). Studies on the norms and correlations of initial and post-thaw seminal attributes of triple crossbred bulls. *International Journal of Animal Science*, 7, 73-76.
- Walters, J. A. (2012). Influence of age on outcomes of 443 bull pre-breeding examinations performed in the United Kingdom [abstract]. In *Abstract Book XXVII World Buiatrics Congress, Lisboa, Portugal, 3-8 June*, p.65. Lisboa, Portugal: Associação Portuguesa de Buiatria.
- Whittier, D. W., Bailey, T. (2009). Predicting Bull Fertility. Virginia State University. Virginia Cooperative Extension. 400-009. Acedido em 14-05-2012, disponível em <http://pubs.ext.vt.edu/400/400-009/400-009.html>

## Anexo: Ficha para exame andrológico



### Exame andrológico

<b>Data do exame:</b>							
<b>Animal</b>				<b>Proprietário</b>			
Espécie				Nome			
Nº Oficial				Exploração			
Nº de registo				NIF			
Data de nascimento				Morada			
Raça				contacto			
<b>Exame físico</b>							
PCC		TR:		Sistema respiratório		Motilidade intestinal	
Outras afecções							
<b>Exame macroscópico</b>				<b>Por:</b>			
Glândulas acessórias							
Tricotomia		Sim		Não			
Exteriorização na palpação		Sim		Não			
Exteriorização na electroejaculação		Sim		Não			
Volume do sémen		Cor, consistência do sémen					
Perímetro testicular (cm)		Palpação testicular					
Prepúcio							
Outras observações							
<b>Exame microscópico</b>				<b>Por:</b>			
Motilidade massal (1-5)				Motilidade individual (%)			
<b>Esfregaço</b>							
Viáveis (%)				Formas anormais (%)			
Principais anomalias							
<b>Resultado do exame</b>							